

# **Anwendungsorientierte Synthese und Charakterisierung neuartiger Pseudopolysaccharide**

Von der Gemeinsamen Naturwissenschaftlichen Fakultät  
der Technischen Universität Carolo-Wilhelmina  
zu Braunschweig

zur Erlangung des Grades eines  
Doktors der Naturwissenschaften  
(Dr. rer. nat.)

genehmigte  
**Dissertation**

von Jens Hollmann  
aus Fallersleben

1. Referent:	Prof. Dr. J. Klein
2. Referent:	Prof. Dr. K. Buchholz
eingereicht:	13.07.2001
mündliche Prüfung:	16.10.2001
Druckjahr:	2001

## Danksagung

Mein Dank gilt

- Herrn Prof. Dr. J. Klein für die Überlassung des Themas und ganz besonders für die immerwährende wohlwollende Unterstützung
- Herrn Prof. K. Buchholz für sein Interesse und die Übernahme des Korreferats
- allen Mitarbeitern und Kommilitonen der Braunschweiger Chemie, insbesondere meiner Arbeitsgruppe für die angenehme Arbeitsatmosphäre
- Anne-Christina Baaß (Institut für Bioverfahrenstechnik, TU-Braunschweig) für die Betreuung der TOC-Messungen
- Jan Anders (Lehrstuhl für Technologie der Kohlenhydrate) für die Überlassung von 3-Amino-Saccharose sowie Dr. E. Stoppok (Zuckerinstitut, Braunschweig) für die Nutzung des Dr. Lange Photospektrometers
- Herrn Prof. Dr. S. Ansorge sowie Herrn Dr. M. Träger und seinem Team vom IMTM in Magdeburg für die Durchführung der immunologischen Tests
- Frau H. Heil (Institut für Pharmazeutische Chemie, TU-Braunschweig) für die Durchführung der Elementaranalysen und Frau P. Holba-Schulz (Institut für Organische Chemie) für die Aufnahme der NMR-Spektren
- allen weiteren mir wichtigen Personen, die mich fachlich und/oder menschlich unterstützt haben.

Für die Finanzierung dieser Arbeit bedanke ich mich bei der Nordzucker AG.

*So eine Arbeit wird eigentlich nie fertig.  
Man muß sie für fertig erklären,  
wenn man nach Zeit und Umständen das Mögliche getan hat.*

Johann Wolfgang von Goethe, „Italienreise“ (1787)

*Das Schwierige an den gordischen Knoten ist – sie zu erkennen.*

Šbaer (2001)

**Für S.**

# 1 Inhaltsverzeichnis

1	Inhaltsverzeichnis .....	1
2	Zusammenfassung .....	4
3	Einleitung .....	6
4	Aufgabenstellung .....	14
5	Theoretischer Teil .....	15
5.1	Polymerisation .....	15
5.1.1	Radikalische Homopolymerisation .....	15
5.1.2	Radikalische Copolymerisation .....	16
5.1.3	Ringöffnende Polymerisation .....	22
5.2	Physikalische Polymercharakterisierung .....	30
5.2.1	Viskosimetrische Molekulargewichtsbestimmung .....	30
5.2.2	Statische Lichtstreuung .....	35
5.2.3	SEC .....	37
5.2.4	SEC-LS-Kopplung .....	38
5.2.5	Elementaranalyse .....	39
5.2.6	Differential Scanning Calorimetry (DSC) .....	39
5.3	Biologische Abbaubarkeit .....	42
5.4	Immunologische Untersuchungen .....	46
5.4.1	Toxische Effekte bioaktiver Polymere auf humane Immunzellen .....	46
5.4.2	Einfluß der Polymere auf die funktionelle Aktivität von Lymphozyten ....	46
6	Ergebnisse und Diskussion-Polyvinylsaccharide und Polymethylvinylacetamid ..	48
6.1	Reduktive Aminierung .....	49
6.2	Monomersynthese .....	50
6.2.1	Harnstoffderivate .....	50
6.2.2	Amidderivate .....	55
6.3	Polymerisation .....	57
6.4	Copolymerisationskinetik .....	62
6.5	Mittlere Sequenzlängen und Sequenzlängenverteilung .....	66

6.6	Glasübergangstemperaturen .....	70
6.7	Ergebnisse der Viskosimetrie .....	74
6.8	Ergebnisse der Lichtstreuung .....	75
6.9	Die KUHN-MARK-HOUWINK-Beziehung .....	77
6.10	Resümee der physikochemischen Charakterisierung.....	83
6.11	Biologische Abbaubarkeit .....	86
6.12	Immunologische Untersuchungen .....	92
6.12.1	Zytotoxische Effekte der Testsubstanzen .....	92
6.12.2	Einfluß der Polymere auf die funktionelle Aktivität von Lymphozyten....	93
6.13	Resümee der biochemischen Untersuchungen .....	96
7	Polyether-Saccharide .....	98
7.1	Synthese .....	98
7.2	Ergebnisse und Diskussion.....	100
8	Ausblick .....	104
9	Experimenteller Teil .....	105
9.1	Verwendete Chemikalien .....	105
9.2	Monomersynthese .....	105
9.2.1	1-Amino-1-desoxy-lactitol (Lactosamin) .....	105
9.2.2	N-Vinyl-N'-desoxy-lactitol-harnstoff (VIC-Lac) .....	106
9.2.3	1-Amino-1-desoxy-maltitol (Maltosamin) .....	108
9.2.4	N-Vinyl-N'-desoxy-maltitol-harnstoff (VIC-Mal) .....	109
9.2.5	N-Vinyl-N'-desoxy-saccharitol-harnstoff (VIC-Sac) .....	111
9.2.6	$\alpha$ -(N-Acetamido-1-desoxy-l-desoxy-lactitol)-acrylsäure (It-Lac A).....	112
9.2.7	Allyl-D-Glucopyranosid .....	114
9.2.8	Allyl-D-glucopyranosid-tetraacetat.....	115
9.2.9	Epoxypropyl-glucopyranosid-tetraacetat .....	116
9.3	Polymerisation .....	118
9.3.1	Radikalische Polymerisation.....	118
9.3.2	Ringöffnende Polymerisation .....	120
9.4	Kernresonanzspektroskopie (NMR) .....	121
9.5	Elementaranalyse (EA) .....	121

---

9.6	Viskosimetrie .....	121
9.7	Brechungsindexinkrement .....	121
9.8	Lichtstreuung .....	122
9.8.1	Streulichtmessungen im micro-Batchverfahren .....	122
9.8.2	Streulichtmessungen mit vorgeschalteter SEC .....	122
9.9	Differential Scanning Calorimetry (DSC) .....	123
9.10	Biologische Abbaubarkeit .....	125
9.11	Immunologie .....	127
9.11.1	Toxische Effekte bioaktiver Polymere auf humane Immunzellen .....	127
9.11.2	Einfluß der Polymere auf die funktionelle Aktivität von Lymphozyten ...	127
10	Literaturverzeichnis .....	129
11	Anhang .....	133
11.1	Berechnung des Einbaus von Monomer1 ins Copolymer .....	133
11.2	Copolymerisationsdiagramme .....	136
11.3	Toxische Effekte bioaktiver Polymere auf humane Immunzellen .....	145
11.4	Einfluß der Polymere auf die funktionelle Aktivität von Lymphozyten .....	147
11.5	Charakterisierungsdaten der Polyethersaccharide .....	156



## 2 Zusammenfassung

Die in dieser Arbeit beschriebenen Untersuchungen befassen sich mit der anwendungsorientierten Synthese und Charakterisierung verschiedener neuartiger Pseudopolysaccharide. Folgende Ziele wurden erreicht:

1. Mit den Vinylharnstoffcopolymeren wurde die Klasse der Polyvinylsaccharide um Vertreter erweitert, die – in Analogie zum biologisch abbaubaren Polyvinylalkohol – ein Heteroatom direkt an der Polymerhauptkette tragen. Dies gelang durch die Verwendung von Vinylisocyanat als Kopplungsgruppe. Für letzteres wurde im Zuge dieser Arbeit eine gut funktionierende Laborsynthese entwickelt.

Die Polymerisationsreaktionen wurden, radikalisch initiiert, in wässriger Lösung durchgeführt. Durch die Variation von Polymergrad, Saccharideinbauquote, Art des Comonomers sowie Art des Saccharidmonomers war es möglich, baukastenartig ein breites Raster strukturell unterschiedlicher Substanzen zu synthetisieren und mit bereits existierenden Polyvinylsacchariden zu vergleichen.

Dabei wurden aufgrund von Voruntersuchungen Acrylamid und Methylvinylacetamid als Comonomere gewählt. Beide Monomere sind kommerziell erhältlich, hydrophil und reagieren mit den Vinylharnstoffmonomeren zu statistischen Copolymeren. Die hergestellten Saccharidmonomere basierten auf Lactose, Maltose und Saccharose.

2. Für Polymethylvinylacetamid wurde erstmals eine  $[\eta]$ -M-Beziehung mit Wasser als Lösungsmittel aufgestellt. Auch die Synthese konnte erstmals in wässriger Lösung durchgeführt werden – eine ökonomische wie auch ökologische Verbesserung gegenüber der bisher beschriebenen Polymerisation in organischen Lösungsmitteln. Das erhaltene Polymer weist ähnliche Werte für Mark-Houwink-Exponenten und -Koeffizienten auf wie Polyacrylamid.
3. Durch Copolymerisation von Natriumacrylat mit dem Vinylharnstoffmonomer der Lactose wurde eine einfache Möglichkeit aufgezeigt, zu ionischen Copolymeren zu gelangen. Ebenfalls ionische Copolymere, diesmal aber mit der Ladung am Saccharidmonomer, konnten durch die Verwendung von Lactoseitaconid synthetisiert werden. Dieses Monomer ist komplett auf Basis nachwachsender Rohstoffe herstellbar.
4. Mit ausgewählten Vertretern der hergestellten Polymere wurden orientierende biologische Abbautests im oxidativen Milieu durchgeführt. Bestimmender Anteil war hierbei der Saccharidanteil im Polymer. Die Substanz mit dem größten Saccharidanteil (52 Mol%) wurde zu etwa einem Drittel mineralisiert.
5. Biochemische Untersuchungen zeigten, daß alle untersuchten Polymere nicht zytotoxisch sind. Die erwartete Biokompatibilität wurde damit bestätigt und somit erste Voraussetzungen zu einer Verwendung im medizinisch-pharmazeutischen Be-

reich geschaffen. Immunologische Untersuchungen zeigten, daß der Effekt der Polymere auf Lymphozyten von dem Polymergrad, der Saccharideinbauquote sowie dem Saccharidtyp abhängt. Die besten Ergebnisse wurden mit einem Copolymer relativ hohen Polymergrads auf Lactosebasis und einer Einbauquote von 7 Mol% erzielt. Diese Substanz hat eine deutlich positive Wirkung auf die Stimulierbarkeit von T-Zellen.

6. Mit der Herstellung von Polyethersacchariden gelang es erstmals – analog zu bioabbaubaren Polyestern, -ethern und -amiden – ein Heteroatom direkt in die Hauptkette einzubauen. Dazu wurden mit Acetylgruppen geschützte Epoxide auf Glucosebasis synthetisiert und ringöffnend in Substanz polymerisiert. Aufgrund der Polyetherkette unterscheiden sich diese Substanzen, auch im entschützten Zustand, von den Polyvinylsacchariden in Bezug auf Flexibilität der Kette, Löslichkeit sowie im biologischen Abbau.

### 3 Einleitung

Kohlenhydrate stellen eine Gruppe unter den organischen Verbindungen dar, die von herausragender Bedeutung ist. So bestehen etwa 95% der jährlich nachwachsenden Biomasse von rund 200 Mrd. Tonnen aus Kohlenhydraten. Zur Zeit werden davon weniger als 3% vom Menschen genutzt<sup>1</sup>. Monosaccharide wie Polysaccharide kommen in allen lebenden Organismen vor. Sie erfüllen in der Natur hauptsächlich drei Funktionen:

- Monosaccharide werden von Pflanzen durch Photosynthese für deren physiologische Bedürfnisse erzeugt. Die Speicherung dieser energiereichen Stoffe erfolgt in Form von Polysacchariden – in der Pflanze in Form von Stärke, im menschlichen Körper als Glycogen. Beide Stoffe sind Polymere der D-Glucose.
- Kohlenhydrate sind maßgeblich am Aufbau von Strukturkomponenten beteiligt. Der größte Teil von Insektenpanzern, Krabben- und Hummerschalen besteht aus Kohlenhydraten, genauer aus Chitin, dies ist ein Polymer von 2-Acetamido-2-deoxy-D-Glucose. Das Stützgewebe von Pflanzen wird ebenfalls durch Kohlenhydrate gebildet, nämlich von Cellulose, einem Polymer der D-Glucose.
- In Form von Nucleinsäuren, Glykolipiden und Glykoproteinen sind sie an biologischen Reaktionen beteiligt, ohne die Leben in der bekannten Form nicht möglich wäre<sup>2,3</sup>.

Diese Omnipräsenz macht Kohlenhydrate zu einem interessant als nachwachsende Rohstoffe für Industrie und Technik. Zum anderen bietet ein verbessertes Verständnis ihrer biochemischen Prozesse die Möglichkeit, Abläufe zu verändern, Unliebsames – wie z.B. eine Virusinfektion – aufzuhalten und Gewünschtes (z.B. Immunreaktion gegen Pathogene) zu verstärken.

#### 1.) Einsatz als nachwachsende Rohstoffe für wasserlösliche Polymere

Die Diskussion um nachwachsende Rohstoffe begann in den siebziger Jahren, als kräftige Anhebungen der Erdölpreise die Abhängigkeit von der Petrochemie deutlich ins Bewußtsein rückten. Seitdem nutzt die Industrie vermehrt die Syntheseleistung der Natur und damit Umweltvorteile wie z.B. die Möglichkeit, Produkte aus nachwachsenden Rohstoffen wegen ihrer biologischen Abbaubarkeit nach Gebrauch wieder in den natürlichen Kreislauf zurückzuführen. Sie reagiert damit auf umweltrechtliche Vorgaben und Forderungen von Verbrauchern nach umweltverträglichen Produkten und Verfahren.

Dadurch bestehen gute Voraussetzungen und verstärktes Interesse, Innovationspotentiale bei nachwachsenden Rohstoffen zu erschließen. Gemäß einer Einschätzung des

Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten<sup>4</sup> ergibt sich die Umweltverträglichkeit nachwachsender Rohstoffe daraus, daß sie

- weitgehend CO<sub>2</sub>-neutral sind, da sie nur soviel CO<sub>2</sub> freisetzen, wie zuvor beim Pflanzenwachstum gebunden wurde,
- zur Schonung begrenzter fossiler Ressourcen wie Erdöl und Erdgas beitragen und
- als Produkt des natürlichen Stoffkreislaufes biologisch schnell und vollständig abgebaut werden.

Die bereits eingesetzten nachwachsenden Rohstoffe stellen rund 10% der verwendeten Gesamtrohstoffmenge der chemischen Industrie dar. Eine natürliche Rohstoffbasis ist keine absolute Garantie für optimale Umwelteigenschaften, doch ökologische Vorteile sind bei Produkten aus nachwachsenden Rohstoffen besonders häufig anzutreffen. Hier ist jeweils eine Einzelfallbetrachtung unerlässlich. Entscheidend, um die Nutzung nachwachsender Rohstoffe zum Erfolg zu führen, ist also ihr Einsatz auf Gebieten, in denen sie sich vorteilhaft von Rohstoffen auf fossiler Basis abheben.

Im Bereich der makromolekularen Stoffe existieren Einsatzgebiete u.a. bei der Herstellung von Papier und Pappe, in Lacken und Farben, Waschmittelhilfsstoffen, Bekleidung und Textilien, Möbeln und Baustoffen, Dämmstoffen sowie in der Biochemie und Biotechnologie.

In der Bundesrepublik werden pro Jahr mehr als 100.000 t Stärkeprodukte verarbeitet. Dabei werden Stärken in zunehmendem Maße chemisch oder physikalisch modifiziert eingesetzt. Diese Derivate, die durch polymeranaloge Umsetzungen erzeugt werden, eröffnen neue interessante Einsatzgebiete<sup>5</sup>.

Doch auch die Nutzung von Stärkehydrolysaten als Synthesebausteine für Polymere ist von großem Interesse. Mono- und Oligosaccharide können chemisch oder biologisch transformiert werden, so daß aus ihnen radikalisch oder ionisch polymerisierbare Produkte hergestellt werden können. Diese Substanzen bieten den Vorteil, daß man aus ihnen durch gezielte Variation vielfältige gut definierte Polymere synthetisieren kann.

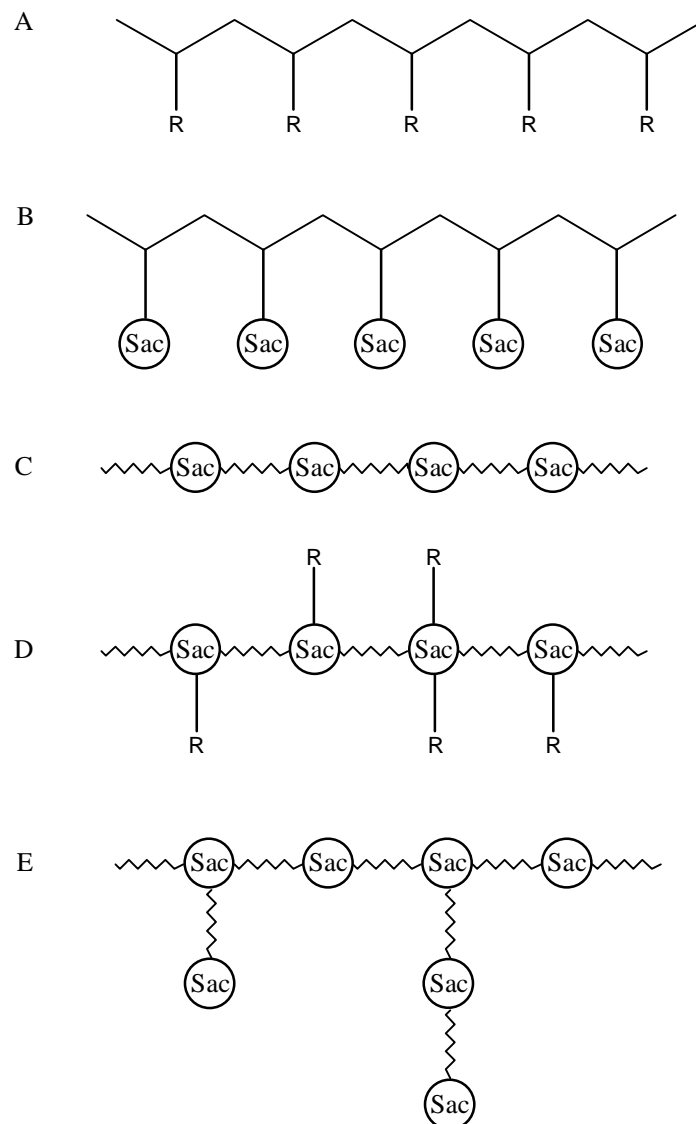
Als Ausgangspunkt hierfür ist auch die Saccharose gut geeignet, steht sie doch mit einer Weltjahresproduktion von über 110 Millionen Tonnen an der Spitze der industriell in hoher Reinheit hergestellten niedermolekularen organischen Verbindungen<sup>6</sup>. Dennoch besitzt sie trotz ihrer hohen Reinheit und ihres Preises, der im Bereich organischer Lösungsmittel liegt, als Bulk-Chemikalie gegenüber petrochemischen Rohstoffen einige gravierende Nachteile. Zum einen ist sie überfunktionalisiert, d.h. es mangelt ihr an funktionellen Gruppen, an denen eine eindeutige Folgechemie ablaufen könnte, zum anderen ist die glycosidische Bindung säurelabil, so daß saure Reaktionsbedingungen vermieden werden müssen, will man das Molekül in seiner Disaccharid-Struktur erhalten. Diese Einschränkungen haben dazu geführt, daß zur Zeit die Verwendung von Saccharose im Vergleich zu anderen großtechnisch herstellbaren Industriechemikalien vergleichsweise gering ist.

Klassifizierung wasserlöslicher Polymere:

Abbildung 3-1 zeigt die grundlegenden Strukturen wasserlöslicher Polymere. Zum Typ A gehören die vollsynthetischen Polymere, die Produkten der Petrochemie entstammen. Hierzu zählen u.a. Polyacrylamid, Polyacrylsäure, Polyvinylalkohol und Polyvinylpyrrolidon.

Auf der anderen Seite stehen als Typ E die unmodifizierten Biopolymere. Ihre Gewinnung kann sowohl durch Isolation und Aufarbeitung aus pflanzlichen und tierischen Rohstoffen erfolgen, wie auch mit Hilfe von Mikroorganismen, die mittels biotechnologischer Verfahren aus einfachen Zuckern komplexe extrazelluläre Polysaccharide herstellen können.

Abbildung 3-1: Prinzipielle Strukturen wasserlöslicher Polymere



Typ D faßt die semisynthetischen Biopolymere zusammen. Sie bestehen aus einem Polysaccharidgrundgerüst, das durch polymerhomologe Umsetzungen modifiziert wird. Meist finden Veretherungen oder Veresterungen statt, die zu synthetischen Seitengruppen führen. Da diese Reaktionen jedoch nur begrenzt zu steuern sind, können die Eigenschaften der modifizierten Polymere nicht exakt festgelegt werden. Hinzu kommt, daß bei der Umsetzung bereits Abbaureaktionen auftreten, die die Produkteinheitlichkeit weiter verringern.

Eine relativ neue Klasse bilden die halbsynthetischen Saccharidpolymere des C-Typs, die erstmals 1994 von Buchholz und Skeries systematisch hergestellt und untersucht wurden<sup>7</sup>. Hier werden partiell geschützte Saccharidbausteine so copolymerisiert, daß sich die Zuckereinheiten in der Polymerhauptkette befinden. Die Acetyl- oder Benzylschutzgruppen werden anschließend abgespalten, so daß wasserlösliche Polymere entstehen.

Ebenfalls zu den halbsynthetischen Polymeren gehören die unter B gefaßten Polyvinylsaccharide. Sie bestehen aus einer synthetischen Hauptkette und Saccharidseitengruppen.

Bei ihrer Synthese können prinzipiell drei Wege beschritten werden: Zum einen mittels polymeranaloger Umsetzungen ähnlich Typ D, d.h. an ein geeignetes, aber in diesem Fall synthetisches Trägerpolymer werden reaktive Saccharidderivate gekettet<sup>8</sup>. Bei diesen Reaktionen finden sich naturgemäß die gleichen Nachteile wie sie auch bei den Polymeren des D-Typs auftreten. Die Vollständigkeit des Umsatzes ist, gerade bei sterisch anspruchsvollen Sacchariden, nicht zu gewährleisten und Neben- bzw. Abbaureaktionen können eine signifikante Rolle spielen.

Der zweite Weg geht von geschützten Zuckern aus, bei denen nur eine Hydroxylgruppe zum Koppeln an die Vinylkomponente ungeschützt bleibt. Die Polymerisate sind wasserunlöslich und müssen durch Abspaltung der Schutzgruppen in die wasserlösliche Form überführt werden<sup>9,10,11,12</sup>.

Der eleganteste Weg schließlich führt über die Verknüpfung einer polymerisationsfähigen Verbindung mit einem reaktiven Saccharidbaustein in Gestalt eines Aminopolyols. Hierdurch erlangt man ohne die umständliche Verwendung von Schutzgruppen definierte monosubstituierte Monomere, die anschließend zu chemisch eindeutig charakterisierbaren linearen Makromolekülen polymerisiert werden können. Die Variation der Saccharid- wie auch der Vinylkomponente führt zu einem breiten Spektrum an zur Verfügung stehenden Monomeren<sup>13,14,15,16,17</sup>.

Diese Methode wurde erstmals in den sechziger Jahren von Whistler<sup>18</sup> angewendet, jedoch erfolgte weder eine systematische Untersuchung der Polymereigenschaften, noch wurden in größerem Umfange Synthesen durchgeführt. Anfang der achtziger Jahre wurde dieses Konzept von Klein<sup>19,20</sup> und Mitarbeitern wieder aufgegriffen. Dabei wurden Methoden erarbeitet, auch reduzierende Di- und Oligosaccharide über Amid- und Harnstoffbindungen ohne Verwendung von Schutzgruppen in Polymere zu integrieren.

ren<sup>21,22,23,24,25</sup>. In jüngerer Zeit wurden die Untersuchungen ausgeweitet auf wasserlösliche und amphiphile Copolymere<sup>26,27,28,29,30,31,32</sup> mit Blick auf Anwendungen für die Polyvinylsaccharide z.B. als Fällungs-/Flockungsmittel, Tenside sowie zur Enzymstabilisierung.

## 2.) Anwendungen im biochemischen Bereich

Die physiologische Bedeutung von Kohlenhydraten wurde durch zahlreiche Untersuchungen bestätigt. Einige interessante Anwendungsmöglichkeiten von auf Kohlenhydraten basierenden Polymeren seien kurz vorgestellt:

### Inhibitoren der Agglutination von Erythrocyten durch Influenzaviren<sup>33,34</sup>:

Der erste Schritt bei der Invasion von Säugetierzellen durch Influenzaviren ist das Binden des virulären Membranproteins Hämagglutinin (HA) an Sialinsäurereste (SA=N-Acetylneuraminsäure) von Glycoproteinen und Glycolipiden, die sich an der Zelloberfläche befinden. Stoffe, die dieses Assoziieren stören, sollten die Influenza-Infektion verhindern können.

Noch ist keine Verbindung gefunden, die signifikant stärker zu HA bindet als  $\alpha$ -Glycoside der Sialinsäure<sup>35</sup>. Die Wechselwirkung ist zwar schwach ( $K_D \approx 2 \cdot 10^{-3}$  M), dennoch scheint die Bindung des Influenzavirus zu Zellen stark zu sein. Diese Tatsache beruht wahrscheinlich auf der *Mehrbindigkeit* dieser Wechselwirkungen<sup>36</sup>. Unterstützt wird diese Vermutung durch die Tatsache, daß bestimmte Glycoproteine, besonders  $\alpha_2$ -Makroglobuline, einen hohen Gehalt an Sialinsäure aufweisen und wirksame Inhibitoren von Virus induzierten Agglutinationen der Erythrocyten sind<sup>37</sup>.

Unter den bekannten sialinsäurehaltigen Glycoproteinen sind nur wenige, die diesen Effekt zeigen. Die Ursache dafür ist nicht klar. Whitesides<sup>33</sup> vermutet, daß *Zahl und Zugänglichkeit der Sialinsäuregruppen* eine entscheidende Rolle dabei spielen. Die Struktur dieser komplexen polyvalenten Hämagglutination-Inhibitoren ist größtenteils unbekannt, und es ist nicht praktikabel, sehr ähnliche Analoga zu synthetisieren. Daher wurden Sialinsäurederivate mit Acrylamid und seinen Derivaten copolymerisiert. Die aktivsten dieser Copolymere sind starke Inhibitoren der Hämagglutination durch Influenzaviren<sup>38</sup>.

Dieses Vorgehen sollte sich auf eine größere Bandbreite von engbindenden Reagenzien übertragen lassen, die gegen Rezeptoren bzw. Liganden gerichtet sind, welche in mehreren Kopien an der Oberfläche der Zielzelle, des Mikroorganismus oder Virus vorliegen. Diese Thematik ist in der Literatur vielfältig beschrieben<sup>39,40,41,42,43,44,45</sup>.

### Anwendung als künstliche Antigene in immunologischen Assays:

Kohlenhydrate spielen eine wichtige Rolle bei biologischen Erkennungsprozessen<sup>46,47,48</sup>. Zur Untersuchung dieser Prozesse sind "niedermolekulare" Oligomere oft nicht geeignet. Das Koppeln von Oligosacchariden an größere Moleküle wie z.B. Proteine führt zu hochmolekularen, multivalenten Konjugaten, was typisch für antigene Polysaccharide bakteriellen Ursprungs ist. Diese Neoglycoproteine können als Immunisierungs-Antigen verwendet werden, um kohlenhydratgerichtete Antikörper herzustellen, oder als Antigene in immunologischen Assays, um solche Antikörper zu entdecken.

Es gibt jedoch Fälle, wo die Anwesenheit des Proteinanteils unerwünscht ist<sup>49</sup>. So kann die Proteinkette selbst antigene Eigenschaften aufweisen und somit die Bildung von Antikörpern mit unterschiedlicher Spezifität hervorrufen. Außerdem sind aufgrund der Proteineinheit und der verzweigten Kettenstruktur solche Antigene T-abhängig (d.h. sie benötigen T-Lymphocyten), im Gegensatz zu den T-unabhängigen natürlichen Kohlenhydrat-Antigenen, welche B-Lymphocyten in Abwesenheit von T-Zellen stimulieren<sup>50</sup>. Schließlich kann die "Konzentration" der erkennenden Gruppen im synthetischen Antigen nur in engen Grenzen variiert werden.

Eine Alternative stellen wasserlösliche, schwach immunreaktive Polymere des Polyacrylamid-Typs dar. Elofsson et al. haben durch Copolymerisation von N-Acryloyl-Glycosylamin mit Acrylamid hochmolekulare lineare Polymere hergestellt, die sich bei ELISA-Assays als nützlich herausgestellt haben<sup>51</sup>.

Mehrere Tests mit synthetischen Antigenen bei *Salmonella*<sup>52,53</sup> sind ebenfalls bereits erfolgreich verlaufen. Dabei zeigte es sich, daß die synthetischen Antigene - obwohl von unterschiedlicher Struktur, da in *Seitenketten* und nicht wie die natürlichen O-antigenen Polysaccharide, in der Hauptkette - absolut spezifisch sind. Desweiteren traten keine Kreuzreaktionen mit heterologen Antisera auf, was bei Lipopolysacchariden, die von Bakterien gewonnen werden, möglich ist.

Ein weiterer Vorteil von aufgereinigten Polysaccharid-Impfstoffen ist das geringe Risiko adverser Reaktionen verglichen mit Impfstoffen, die ganze Zellen enthalten. Auch können solche Impfstoffe Immunität gegen Infektionen geben, die durch antibiotika-resistente Bakterien hervorgerufen werden<sup>54</sup>.

### Anwendung als zellenspezifisches, biomedizinisches Material<sup>55,56</sup>:

Hepatocyten (Leberzellen), im Körper metabolisch hochaktiv, verlieren außerhalb des Organismus rasch ihre zellulären Funktionen und sterben ab. Über längere Zeit kultivierbare Hepatocyten erlaubten ausführliche Untersuchungen von Leberkrankheiten. Die Verwendung als "künstliches Organ" sowie als Bioreaktor zur Synthese medizinisch relevanter Proteine ist ebenfalls vorstellbar<sup>57</sup>.

Eine wesentliche Voraussetzung zur Erhöhung der Überlebensfähigkeit von Hepatocyten ist die Bereitstellung eines "Ankers", um die Zellen auf einer festen Oberfläche



anhaften zu lassen. Zu diesem Zweck wurde die Oberfläche von Kulturschälchen mit extrazellulärem Material überzogen (Kollagen und Derivate)<sup>58</sup>. Hepatocyten sind in der Lage, *Kohlenhydratsequenzen zu erkennen*<sup>59</sup>, daher schien es vielversprechend, sie in Oberflächenbeschichtungen der Kulturschälchen zu verwenden. Acrylamid, copolymerisiert mit einem Kohlenhydratbaustein, ergibt Gele, die zur spezifischen Adhäsion von Hepatocyten führen<sup>60,61</sup>, wie mehrfach festgestellt wurde<sup>62</sup>. Kobayashi<sup>63</sup> fand heraus, daß Hepatocyten, die sich in PVLA (ein laktosetragendes Styrol-Polymer) beschichteten Kulturschalen befinden, später absterben, als wenn sie in einem Glas- oder PS-Schälchen kultiviert werden. Ähnlichen Materialien, die hydrophobe Oberflächen wasserbenetzbar machen, wird ebenfalls Potential in biomedizinischem Material nachgesagt<sup>64</sup>.

### Anionische Polymere und biologische Abbaubarkeit

*Struktur und Molekulargewicht* von synthetischen Polyanionen stehen in direktem Bezug zur biologischen *Aktivität und Toxizität*. Breslow zeigte, daß die akute Toxizität von Pyran (Divinylether-Maleinsäureanhydrid Copolymer) in Mäusen mit zunehmendem Molekulargewicht zunahm<sup>65</sup>. Daten der biologischen Aktivität von Pyran-Fractionen (2500-32000 Dalton) wiesen darauf hin, daß Molekulargewichte bis zu 15000 Dalton, RES stimulierten, Fractionen höherer Molekulargewichte RES unterdrückten. Ein anderes anionisches Polymer, das Heparin, besitzt biologische Eigenschaften aufgrund seiner Fähigkeit, durch ionische Wechselwirkungen mit einer Vielzahl bedeutender Proteine<sup>66,67</sup> Bindungen eingehen zu können. Es ist daher eher ein polyanionisches Medikament als ein einfaches Anticoagulinans<sup>68</sup>.

Polymere Drug-Carrier sind gewöhnlich *nicht biologisch abbaubar*. Wenn sie *größer als 40000 Dalton* sind, könnten sie sich im Wirt ansammeln und unbeabsichtigte Effekte auslösen. Wasserlösliche Polymere können die Lipoprotein-Membran nicht durch Diffusionsprozesse überwinden, ohne die Membran-Integrität zu stören. Der einzige bekannte Überwindungsweg ist die Endocytose.

### Zusammenfassung

Aus den Beispielen wird ersichtlich, daß gerade im biochemischen Bereich makromolekulare Substanzen ihren monomeren Einzelbausteinen oft überlegen sind. Die Ursachen sind vielfältiger Art. Bei der Immunologie bedarf es einer gewissen Mindestgröße, um wirksam zu sein. Die lokale Konzentrationserhöhung wirksamer Gruppen durch den Einbau in die Polymerkette, durch den die Summe von schwachen Einzelwechselwirkungen zu einem starken Effekt führt, ist sicherlich bedeutsam bei vielen Erkennungsprozessen (Kooperativer Effekt). Hierfür ist in der Regel eine gewisse Flexibilität der Kette Voraussetzung. Durch Änderungen seiner räumlichen Struktur muß sich das Polymer den Rezeptorstellen anpassen können, um maximale Wechselwirkung zu erzielen. Die Wirkstoffe müssen nicht nur in der Nähe sein, sie müssen auch in der Lage

sein, sich sterisch anspruchsvollen Umgebungen anzupassen. So sind Konformationen in Form von „Taschen“ ähnlich wie bei Enzymen durchaus vorstellbar. Aus diesem Grund können Copolymere vorteilhaft sein, um die nötige Flexibilität der Kette zu gewährleisten und somit durch die Kohlenhydrateinbauquote die Aktivität zu modifizieren.

Der Einsatz von Polymeren des Polyvinylsaccharid-Typs bietet sich bei biochemischen und medizinischen Applikationen besonders an. Ausgegangen wird von wohldefinierten Monomeren auf Basis ressourcenschonender nachwachsender Rohstoffe. Aus ihnen lassen sich biokompatible Polymere maßschneidern und, z.B. für ein Screening, durch Variation von Saccharid, Kopplungsgruppe und Comonomer ein breites Spektrum an interessanten Polymeren erzeugen. Die biologische Abbaubarkeit sollte dabei ebenfalls als Funktion von Kopplungsgruppe und Comonomer einstellbar sein. Ideal wäre es, auch an oder in die Hauptkette *Heteroatome* einbauen zu können und so die biologische Abbaubarkeit noch zu verbessern.

## 4 Aufgabenstellung

Wie in der Einleitung dargestellt, gibt es zahlreiche Anwendungsgebiete für Polysaccharide. Die Verwendung im biochemischen Bereich ist besonders attraktiv, da die Vorteile dieser Substanzklasse dort verstärkt zur Geltung kommen.

Ziel dieser Arbeit ist die anwendungsorientierte Synthese und Charakterisierung innovativer Pseudopolysaccharide. Es sollen Saccharidpolymere hergestellt werden, die – ausgerichtet an den strukturellen Charakteristika derzeit bekannter biologisch abbaubarer Polymere – ein Heteroatom direkt an, oder wenn möglich sogar in der Hauptkette aufweisen. In früheren Arbeiten wurde eine Vielzahl von Polyvinylsacchariden hergestellt, wobei die polymerisierbaren Gruppen jedoch ausnahmslos Methacrylsäure oder Acrylsäurederivate waren. Das derzeitige Wissen über biologisch abbaubare Polyvinylsaccharide soll somit gezielt erweitert und vertieft werden. Gerade für Polymere, die im pharmazeutisch-medizinischen Sektor eingesetzt werden, ist die Eigenschaft der biologischen Abbaubarkeit häufig von Vorteil, da zu große Moleküle die Zelle nicht mehr verlassen können und sich somit im Gewebe anreichern.

Durch systematisches Vorgehen bei der Synthese wird der Einfluß verschiedener Parameter auf das physiko- bzw. biochemische Verhalten und die biologische Abbaubarkeit der Polyvinylsaccharide untersucht. Hierzu sind Variationen bei der Saccharideinbauquote, dem Saccharidtyp, sowie bei dem Comonomertyp und dem Polymergrad vorgesehen. Durch entsprechende Wahl geeigneter Comonomere soll dabei die den Polyvinylsacchariden eigene Biokompatibilität erhalten bleiben.

Zum Bearbeiten dieser Aufgabenstellung werden zum einen physikochemische Messungen durchgeführt, zum anderen geeignete Testsubstanzen bereitgestellt, die auf immunologische Aktivität und Zytotoxizität untersucht werden sollen. Ebenfalls sollen orientierende biologische Abbauprüfungen durchgeführt werden.

Ein weiterer wichtiger Aspekt dieser Arbeit besteht in der Verwendung von Saccharose als Teil einer der Saccharidkomponenten. Dazu müssen Methoden genutzt werden, mit denen ein geeignetes Saccharosederivat unter nicht sauren Bedingungen an eine polymerisationsfähige Gruppe gekoppelt werden kann, um den saccharoseeigenen Problemen der Überfunktionalisierung und Säurelabilität Rechnung zu tragen.

## 5 Theoretischer Teil

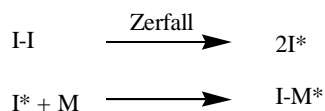
### 5.1 Polymerisation

#### 5.1.1 Radikalische Homopolymerisation

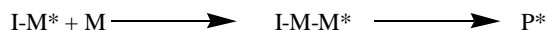
Homopolymere bestehen aus einheitlichen Grundbausteinen. Bei der radikalischen Polymerisation werden sie durch die Reaktion von Radikalen mit reaktionsfähigen Monomeren gebildet. Die Startreaktion wird durch Radikale ausgelöst, die entweder elektrochemisch, katalytisch, photochemisch oder thermisch durch radikalliefernde Initiatoren (I) erzeugt werden. Diese Initiatoren sind etwa Azoverbindungen, Redoxinitiatoren oder Peroxide. Nach der Startreaktion wird in der Wachstumsreaktion ein Monomermolekül (M) an ein Initiatorradikal addiert, hierbei geht der aktive radikalische Zustand auf das angelagerte Monomer ( $M^*$ ) über. In einer Kettenreaktion werden dann Makroradikale ( $P^*$ ) gebildet, indem ein Monomermolekül nach dem anderen addiert wird. Diese Wachstumsreaktion weist üblicherweise eine kleinere Aktivierungsenergie als die Startreaktion auf, daher ist sie auch weniger temperaturabhängig als diese.

Abbildung 5-1: Reaktionsschritte bei der radikalischen Polymerisation

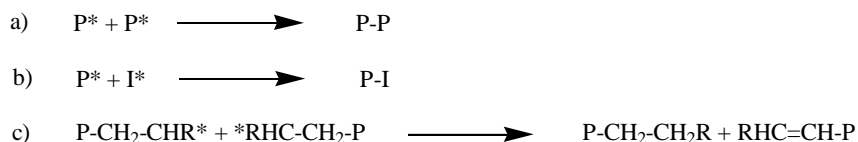
**Startreaktion:**



**Wachstumsreaktion:**



**Abbruchreaktionen:**



In der Regel erfolgt der Abbruch einer Polymerisation durch Kombination zweier Radikale (Abbildung 5-1a,b) oder Disproportionierung (Abbildung 5-1c).

Die Brutto-Polymerisationsgeschwindigkeit ( $v_{Br}$ ) für eine Polymerisation ergibt sich aus der kinetischen Betrachtung unter idealen Bedingungen nach Gleichung 5-1:

*Gleichung 5-1: Brutto-Polymerisationsgeschwindigkeit für eine Polymerisation<sup>72</sup>*

$$v_{Br} = k_w * [M] * \sqrt{[I]} * \sqrt{\left( \frac{f * k_D}{k_A} \right)}$$

$k_w$  = Geschwindigkeitskonstante der Wachstumsreaktion

$[M]$  = Monomerkonzentration

$[I]$  = Initiatorkonzentration

$f$  = effektiver Bruchteil der Primärradikale, die zum Wachstum beitragen

$k_D$  = Geschwindigkeitskonstante des Initiatorzerfalls

$k_A$  = Geschwindigkeitskonstante der Abbruchreaktion

Ein Maß für die Anzahl der im Makromolekül eines Polymers enthaltenen monomeren Bausteine ist der Polymerisationsgrad. Da die einzelnen Makromoleküle bei einem synthetischen Produkt jedoch nicht von einheitlicher Länge sind, kann man experimentell nur einen mittleren Polymerisationsgrad bestimmen (s. Gleichung 5-2).

*Gleichung 5-2: Der mittlere Polymerisationsgrad*

$$\frac{1}{\overline{P_n}} = \frac{1}{k} * \frac{2 * \sqrt{(k_A * f * k_D)}}{k_w} * \frac{\sqrt{[I]}}{[M]}$$

$k$  = abbruchabhängige Proportionalitätskonstante (für reinen Kombinationsabbruch=2; für reine Disproportionierung =1)

Aus den beiden Gleichungen geht unmittelbar hervor, daß Maßnahmen wie Erhöhung der Initiatorkonzentration oder Temperaturerhöhung zwar eine Erhöhung der Polymerisationsgeschwindigkeit zur Folge haben, dabei aber gleichzeitig zu einer Verkleinerung des mittleren Polymerisationsgrades führen.

### 5.1.2 Radikalische Copolymerisation

Bringt man eine Mischung verschiedener Monomere zur Polymerisation, so erhält man in der Regel Makromoleküle, an deren Aufbau alle Monomere der Mischung beteiligt sind. Es ist jedoch nicht gerechtfertigt, im Polymer das gleiche Mischungsverhältnis zu erwarten wie in der Monomermischung. Das Verhalten einer Monomermischung wird

weitgehend durch die Geschwindigkeitsverhältnisse der am Kettenwachstum beteiligten Reaktionen bestimmt. Im einfachsten Fall, einem Copolymerisat aus zwei verschiedenen Monomeren, sind dies folgende vier Reaktionen<sup>69,70,71,72</sup>:



$k_{11}$ ,  $k_{12}$ ,  $k_{22}$ ,  $k_{21}$  sind die bimolekularen Geschwindigkeitskonstanten [ $\text{l mol}^{-1} \text{s}^{-1}$ ] der beiden Homoreaktionen (Reaktion 1 und 3) und der beiden Kreuzreaktionen (Reaktion 2 und 4), wobei der erste Index die Art des aktiven Kettenendes und der zweite die Art des anzulagernden Monomers angibt. Die Copolymerisationsparameter als dimensionslose Größen geben Aufschluß über die jeweilige relative Reaktivität der Kettenenden.

$$r_1 = \frac{k_{11}}{k_{12}} \quad \text{und} \quad r_2 = \frac{k_{22}}{k_{21}}$$

Hieraus lassen sich Aussagen darüber ableiten, in welcher relativen Häufigkeit und auch in welcher Sequenz die Grundbausteine in die Polymerkette eingebaut sind.

Liegt ein Wert für  $r$  nahe bei 1, so bedeutet dies, daß ein bestimmtes aktives Kettenende statistisch etwa gleich häufig Moleküle der Monomere  $\text{M}_1$  und  $\text{M}_2$  addiert. Ist hingegen  $r > 1$ , so wird die Anlagerung eines Monomers an das Kettenende mit dem gleichen Grundbaustein stark bevorzugt; für  $r < 1$  gilt das Umgekehrte, die Reaktion der aktiven Spezies mit dem anderen Monomer ist wahrscheinlicher.

Sehr große oder stark voneinander abweichende Copolymerisationsparameter führen also dazu, daß lange Ketten gleichen Monomers entstehen (der Einbau eines Monomers ist stark begünstigt). Für den Fall, daß beide Copolymerisationsparameter klein sind, kann man von einer vorwiegend alternierenden Reihenfolge der Struktureinheiten ausgehen. Neben der Reaktivität hängt die Häufigkeit, mit der ein  $\text{M}_1$  oder  $\text{M}_2$ -Monomer addiert wird, nur von deren Konzentration ab. Im Zuge der Reaktion verarmt die Lösung am reaktiveren Monomer und diese Änderung der Zusammensetzung des Monomergemisches hat zur Folge, daß sich auch die Zusammensetzungen der entstehenden Polymerketten mit steigendem Umsatz ändern.

Aus den Geschwindigkeitsausdrücken der verschiedenen Wachstumsreaktionen bei stationären Radikalkonzentrationen läßt sich der kinetische Zusammenhang für eine momentane Monomerkonzentration und das molare momentane Einbauverhältnis, die Copolymerzusammensetzung, herleiten (s. Gleichung 5-3).

Gleichung 5-3: Allgemeine Copolymerisationsgleichung, Lewis-Mayo-Gleichung

$$\frac{m_1}{m_2} = \frac{d[M_1]}{d[M_2]} = \frac{(r_1 * [M_1]/[M_2]) + 1}{(r_2 * [M_2]/[M_1]) + 1}$$

$m_1$  = molarer Anteil des Monomeren  $M_1$  [mol%] im Copolymer

$m_2$  = molarer Anteil des Monomeren  $M_2$  [mol%] im Copolymer

$[M_1]$  = molarer Anteil des Monomers  $M_1$  [mol%] im Feed

$[M_2]$  = molarer Anteil des Monomers  $M_2$  [mol%] im Feed

Die Copolymerisationsgleichung ist gültig, wenn die Irreversibilität der Wachstumschritte gewährleistet ist und die im Ansatz vorgegebenen Konzentrationen auch am Ort der Reaktion vorliegen. Letzteres ist unter heterogenen Bedingungen nicht immer gegeben<sup>72</sup>.

Tabelle 5-1 enthält die grundsätzlichen Situationen, die bei einer Copolymerisation auftreten können.

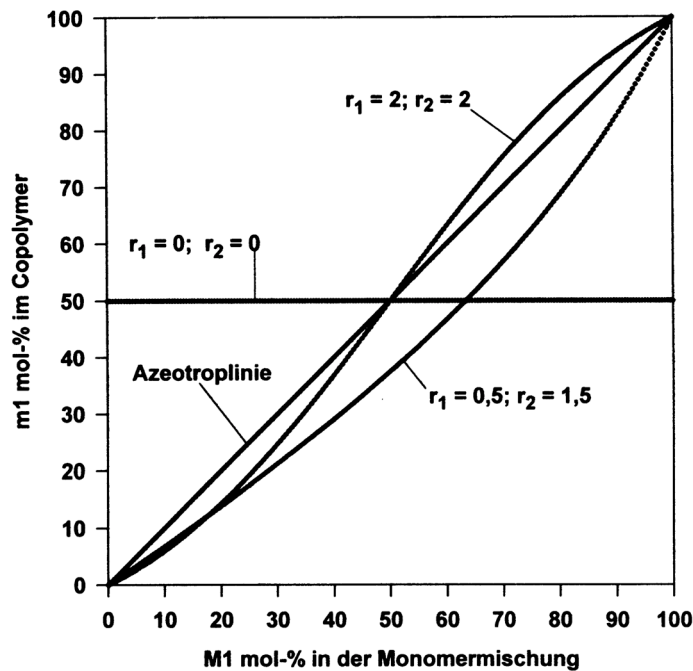
Tabelle 5-1: Zusammenfassung grundsätzlicher Kombinationen von Copolymerisationsparametern<sup>73</sup>

Situation	Copolymerisation	Kurvenverlauf	Lage azeotropes Gemisch
$r_1 \approx 0, r_2 \approx 0$	alternierend	Parallelgerade zur Abzisse	konstant 50 mol-% $M_1$ über alle Feedmischungen
$r_1 < 1, r_2 < 1$	statistisch	S -Kurve mit Diagonalenschnittpunkt	für $r_1 = r_2$ 50 mol-% $M_1$ für $r_1 > r_2$ > 50 mol-% $M_1$ für $r_1 < r_2$ < 50 mol-% $M_1$
$r_1 = 1, r_2 = 1$	ideal (Azeotroplinie)	Diagonale	über ganzen Feedbereich gleiche Zusammensetzung von Copolymer und Feed
$r_1 > 1, r_2 < 1$ $r_1 < 1, r_2 > 1$	statistisch	Kurve ohne Schnittpunkt	----- -----
$r_1 > 1, r_2 > 1$	Blockcopolymerisation	S-Kurve mit Diagonalenschnittpunkt	für $r_1 = r_2$ 50 mol-% $M_1$ für $r_1 > r_2$ < 50 mol-% $M_1$ für $r_1 < r_2$ > 50 mol-% $M_1$
$r_1 = \infty, r_2 = \infty$	keine Copolymerisation	-----	-----

Graphisch können diese Zusammenhänge in einem Copolymerisationsdiagramm verdeutlicht werden (s. Abbildung 5-2). Hierzu werden die experimentell ermittelten Werte der Zusammensetzung des Copolymeren gegen die Zusammensetzung des Feeds aufgetragen. Man erhält ein Diagramm, in dem die Kurve entweder die Diagonale schneidet (Wendepunkt = azeotropes Gemisch), dies gilt für  $r_1 < 1, r_2 < 1$  und  $r_1 > 1, r_2 > 1$ , oder genau auf der Diagonalen (Azeotroplinie) liegt, dies gilt für  $r_1 = 1, r_2 = 1$ . Für  $r_1 > 1$ ,

$r_2 < 1$  bzw.  $r_1 < 1, r_2 > 1$  erhält man mehr oder weniger bauchige Kurven ohne Schnittpunkt mit der Diagonalen. Sie können je nach kinetischem Sachverhalt über- oder unterhalb der Diagonalen liegen. Für  $r_1 = 0$  und  $r_2 = 0$  erhält man eine Parallele zur Abszisse. Für diesen Fall entsteht ein alternierendes Copolymer, d.h. unabhängig von der Zusammensetzung im Feed erhält man stets Copolymere mit gleichen Teilen beider Monomere.

Abbildung 5-2: Copolymerisationsdiagramm verschiedener Copolymerisationsparameterkombinationen<sup>73</sup>



Zur exakten Bestimmung der Copolymerisationsparameter ist es nötig, die molaren Monomerverhältnisse während der Copolymerisation konstant zu halten. Bei kleinen Umsätzen bis zu 10% ist dies annähernd gewährleistet. Darüber hinaus sind durch den eventuell schnelleren Verbrauch eines Monomers keine konstanten Monomerverhältnisse mehr gegeben<sup>74</sup>. Die Methode von Fineman und Ross erlaubt eine graphische Ermittlung der Copolymerisationsparameter. Durch Einsetzen von  $f = m_1/m_2$  und  $F = [M_1]/[M_2]$  in die Copolymerisationsgleichung ergibt sich eine linearisierte Form:

Gleichung 5-4

$$\frac{F}{f} * (f - 1) = r_1 * \frac{F^2}{f} - r_2$$

Gleichung 5-5

$$\frac{f - 1}{F} = -r_2 * \frac{f}{F^2} + r_1$$



Bei der Auftragung von  $(F/f) \cdot (f-1)$  gegen  $(F^2/f)$ , bzw.  $(f-1)/F$  gegen  $f/F^2$  ergeben sich  $r_1$  und  $r_2$  aus der Steigung bzw. dem Achsenabschnitt der Geraden. Diese linearisierten Formen der Copolymerisationsgleichung weisen unterschiedliche Gewichtungen auf. So erhält man aus Gleichung 5-4 andere  $r_1$  und  $r_2$ -Werte als aus Gleichung 5-5.

Durch Modifizierung der Gleichung von Fineman und Ross sowie der Einführung einer Hilfskonstanten  $\alpha$  konnten Kelen und Tüdös<sup>75</sup> diese Nachteile mit Gleichung 5-6 ausgleichen.

Gleichung 5-6

$$\frac{G}{H + \alpha} = \left( r_1 + \frac{r_2}{\alpha} \right) \cdot \frac{H}{H + \alpha} - \frac{r}{\alpha}$$

$$G = \frac{(f-1) \cdot F}{f}$$

$$H = \frac{F^2}{f}$$

$$\alpha = \sqrt{(H_{\max} \cdot H_{\min})}$$

Durch graphische Auftragung von  $G/(\alpha+H)$  gegen  $H/(H+\alpha)$  können  $r_1$  und  $r_2$  auch bei Umsätzen bis ca. 50% ermittelt werden.

Dem Ziel, eine quantitative Beschreibung für jedes Monomer unabhängig vom Comonomeren zu entwickeln, kamen Alfrey und Price nahe. Sie fanden zwei charakteristische Größen  $Q$  und  $e$  (s. Gleichung 5-7), um das unterschiedliche Polymerisationsverhalten von Monomeren deuten zu können.  $Q$  ist dabei ein Maß für die Resonanzstabilisierung des entstehenden Radikals und  $e$  ein Maß für die Polarität des Monomeren bzw. seines Radikals.

Gleichung 5-7:  $Q$ - und  $e$ -Werte nach Alfrey und Price

$$Q_2 = \frac{Q_1}{r_1} \exp[-e_1(e_1 - e_2)]$$

$$e_2 = e_1 \pm \sqrt{(\ln r_1 \cdot r_2)}$$

Mittels der  $r_1$  und  $r_2$ -Werte können die  $Q$ - und  $e$ -Werte für einzelne Monomere berechnet werden, wenn die  $Q$ - und  $e$ -Werte für das entsprechende Comonomer bekannt sind. Als Bezugspunkt ist Styrol gewählt worden, dem willkürlich die Werte  $Q=1$  und  $e=-0.8$  zugeordnet wurden. Mit Hilfe des  $Q$ - und  $e$ -Schemas ist es möglich, das Verhalten von Monomerenpaaren bei Copolymerisationen abzuschätzen, wenn auch die Übereinstimmung nicht immer zufriedenstellend ist. Letzteres liegt unter anderem daran, daß sterische Faktoren keine Berücksichtigung finden.

Die Copolymerisationsgleichung läßt sich nach einer statistischen Ableitung dazu nutzen, die Länge der aufeinanderfolgenden  $M_1$ - und  $M_2$ -Sequenzen und die Sequenzlängenverteilung im Copolymer zu bestimmen<sup>72</sup>. Die mittleren Sequenzlängen  $\bar{l}_1$  und  $\bar{l}_2$  der Struktureinheiten  $M_1$  und  $M_2$  hängen nach Gleichung 5-8 von den Verhältnissen der Additionsgeschwindigkeiten ab.

*Gleichung 5-8: Mittlere Sequenzlängen  $\bar{l}_1$  und  $\bar{l}_2$*

$$\bar{l}_1 = \frac{k_{11}}{k_{12}} * \frac{[M_1]}{[M_2]} + 1 = \left( r_1 * \frac{[M_1]}{[M_2]} \right) + 1$$

$$\bar{l}_2 = \frac{k_{22}}{k_{21}} * \frac{[M_2]}{[M_1]} + 1 = \left( r_2 * \frac{[M_2]}{[M_1]} \right) + 1$$

Da in einem Copolymer die Sequenzlängen variieren, d.h. die Längen der  $M_1$ - und  $M_2$ -Segmente um die mittlere Sequenzlänge streuen, kann die wirkliche Kettenstruktur bezüglich der Sequenzlängen besser durch eine Verteilungskurve (Sequenzlängenverteilung) beschrieben werden. Die Wahrscheinlichkeiten  $w_{1(n)}$  und  $w_{2(n)}$  für das Entstehen einer  $M_1$ - bzw.  $M_2$ -Sequenz der Länge  $n$  sind Funktionen der Additionsgeschwindigkeiten und können nach Gleichung 5-9 berechnet werden. Man erhält durch das Einsetzen einer mit  $n=1$  beginnenden Reihe natürlicher Zahlen die Sequenzlängenverteilung der Copolymere.

*Gleichung 5-9: Berechnung der Sequenzlängenverteilung der Copolymere*

$$w_{1(n)} = \left( \frac{r_1 * [M_1]}{r_1 * [M_1] + [M_2]} \right)^{n-1} * \left( \frac{[M_2]}{r_1 * [M_1] + [M_2]} \right)$$

$$w_{2(n)} = \left( \frac{r_2 * [M_2]}{r_2 * [M_2] + [M_1]} \right)^{n-1} * \left( \frac{[M_1]}{r_2 * [M_2] + [M_1]} \right)$$

### 5.1.3 Ringöffnende Polymerisation<sup>76</sup>

Die ringöffnende Polymerisation von cyclischen Monomeren, wie z.B. cyclischen Ethern, Acetalen, Estern, Amiden und Siloxanen, ist in mehreren Fällen von wirtschaftlichem Interesse. Besonders bedeutsam sind hier die Polymerisationen von Ethylen- und Propylenoxid, sowie die von  $\epsilon$ -Caprolactam.

Viele cyclische Monomere können durch den Ringöffnungsprozeß erfolgreich polymerisiert werden<sup>77,78</sup>. Die Leichtigkeit, mit der die Polymerisation cyclischer Monomere von statten geht, hängt von thermodynamischen und kinetischen Faktoren ab. Wichtiger ist dabei der thermodynamische Faktor, d.h. die relativen Stabilitäten der Ringstruktur und der linearen Struktur. Die Reaktion ist thermodynamisch begünstigt in der Reihenfolge 3,4>8>5,7; Drei- und Vierringe sollten sich also am besten polymerisieren lassen.

Tabelle 5-2: Thermodynamische Daten für die Polymerisation von Cycloalkanen bei 25°C<sup>79</sup>:

Ringgröße	$\Delta H$ [kJ/mol]	$\Delta S$ [J/(mol*K)]	$\Delta G$ [kJ/mol]
3	-113,0	-69,1	-92,5
4	-105,1	-55,3	-90,0
5	-21,2	-42,7	-9,2
6	2,9	-10,5	5,9
7	-21,8	-15,9	-16,3
8	-34,8	-3,3	-34,3

Da sowohl  $\Delta H$  als auch  $\Delta S$  negativ sind, wird die freie Energie der Polymerisation mit steigender Temperatur größer. Oberhalb der „Ceiling Temperatur“ wird  $\Delta G$  positiv und die Polymerisation findet nicht mehr statt.

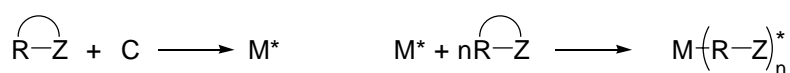
Für alle Ringgrößen erniedrigt die Anwesenheit von Substituenten die thermodynamische Bevorzugung der Polymerisation. Wechselwirkungen zwischen den Substituenten sind stärker im linearen Polymer als im cyclischen Monomer<sup>80</sup>.

Die Thermodynamik liefert jedoch nur die notwendige, nicht jedoch hinreichende Bedingung. Obwohl thermodynamisch die Polymerisation sämtlicher Cycloalkane, mit Ausnahme der Sechsringe, möglich ist, findet sie in der Praxis nicht statt<sup>81</sup>. Es muß auch ein möglicher Reaktionsweg existieren, d.h. die funktionellen Gruppen der Reaktanden müssen in Wechselwirkung treten können. Cycloalkane haben keine Bindung in der Ringstruktur, an der Initiatoren leicht angreifen könnten. Dies sieht bei cyclischen Ethern anders aus. Das Heteroatom stellt eine Möglichkeit für den nucleophilen oder elektrophilen Angriff einer Initiator-Spezies dar. Dieser Angriff führt zu Initiierung und Verlängerung durch Ringöffnung. Solche Monomere polymerisieren also, da sowohl thermodynamische wie auch kinetische Faktoren eine Polymerisation begünstigen.

Mechanismus:

Ringöffnungspolymerisationen können sowohl durch ionische als auch durch ungeladene Spezies gestartet werden. Ihr Angriff führt zur Bildung einer Initiator-Spezies  $M^*$ , die Ion oder Molekül sein kann (abhängig vom Initiator). Ionische Initiatoren sind gewöhnlich reaktiver. Dabei zeigen ionisch ringöffnende Polymerisationen die gleichen Charakteristika wie ionische Polymerisationen vom Vinyltyp, d.h. höhere Lösungsmittelpolarität und größere Gegenionen führen gewöhnlich zu höheren Polymerisationsgeschwindigkeiten. Die Initiatorspezies  $M^*$  wächst durch die sukzessive ringöffnende Anlagerung vieler Monomermoleküle (s. Abbildung 5-3).

Abbildung 5-3: Start- und Wachstumsreaktion der ringöffnenden Polymerisation



Z=funktionelle Gruppe, C=Initiator.

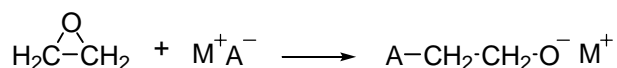
Das ausschließliche Anlagern von Monomer an die wachsende Kette (größere Spezies reagieren nicht mit ihr) ist ein Charakteristikum der Polymerisation. Die Einteilung in Kettenwachstumsreaktion oder Stufenwachstumsreaktion kann jedoch nach zwei Kriterien getroffen werden: Das experimentell beobachtete Geschwindigkeitsgesetz, das die Polymerisation beschreibt und die Verteilung des Molekulargewichts in Abhängigkeit von der Zeit<sup>76</sup>. Die meisten ringöffnenden Polymerisationen verhalten sich im letzteren wie Stufenwachstumsreaktionen, d.h. das Molekulargewicht steigt während der Polymerisation langsam an. Hochmolekulare Ketten werden erst gegen Ende der Reaktion gebildet.

Cyclische Ether:

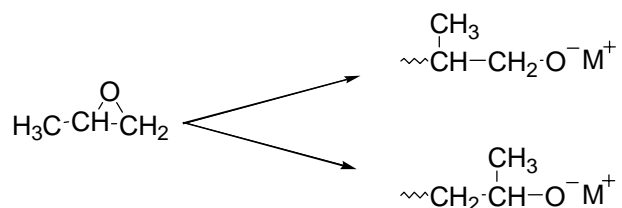
Die Etherbindung ist in der Regel lewisbasisch. Ringöffnende Polymerisationen cyclischer Ether werden daher gewöhnlich von kationischen Spezies gestartet. Epoxide bilden dabei allerdings die Ausnahme, sie können aufgrund der hohen Ringspannung sowohl anionisch als auch kationisch gestartet werden. Bekanntestes Beispiel ist sicher der strukturell einfachste Vertreter, das Ethylenoxid, welches im technischen Maßstab zu Polyethylenglykol umgesetzt wird<sup>82</sup>. Doch wo Ethylenoxid und auch Propylenoxid noch leicht zu hochpolymeren Substanzen reagieren, bedarf es bei den sterisch anspruchsvolleren höheren 1,2-Epoxiden spezieller Bedingungen, um überhaupt eine Polymerisation zu erreichen.

Anionische Polymerisation von Epoxiden:

Epoxide sind durch Hydroxide, Alkoxide, Metalloxide, organometallische Verbindungen und andere Basen polymerisierbar<sup>83</sup>. Es kann unterschieden werden in

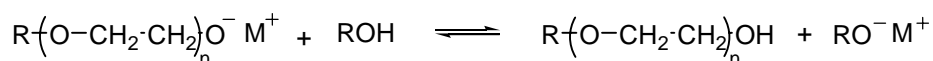
1) Startreaktion:2) Wachstumsreaktion:

Viele anionische Epoxidpolymerisationen weisen Charakteristika von lebenden Polymerisationen auf und brechen nicht ab, solange kein Abbruchreagenz zugefügt wird.

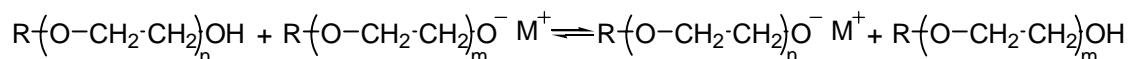
Regiospezifität:

Es entsteht unabhängig vom Ort des Angriffs die gleiche Polymerstruktur, abgesehen von einem kurzen Anfangsstück. Bei der anionischen Polymerisation erfolgt dennoch fast ausschließlich ein Angriff an der sterisch weniger gehinderten Position, also ein S<sub>N</sub>2-Vorgang. Für kationische und Koordinations-Polymerisation ist die Ringöffnung weniger spezifisch<sup>84</sup>.

Alkoxid- oder Hydroxid-initiierte Epoxidpolymerisationen werden in Gegenwart von Alkohol durchgeführt (gewöhnlich der Alkohol, dessen Alkoxid verwendet wird). Der Alkohol wird genutzt, um ein homogenes System zu erhalten, d.h. er bringt das Alkoxid in Lösung. Außerdem erhöht er die Polymerisationsgeschwindigkeit signifikant<sup>85</sup>, vermutlich durch Erhöhung der Konzentration von freien Ionen und Veränderung der Natur der Ionen-Paare von Kontakt-Ionen-Paaren zu lockeren Ionen-Paaren. Bei der Verwendung von Alkohol sind Austausch-Reaktionen zwischen Alkohol und wachsender Kette möglich.



Ähnliche Reaktionen können zwischen dem neu gebildetem Polymeralkohol und anderen wachsenden Ketten ablaufen. Diese Kettenübertragungsreaktionen verringern das mittlere Molekulargewicht.

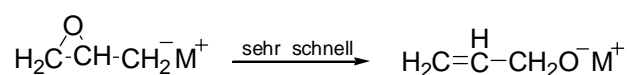
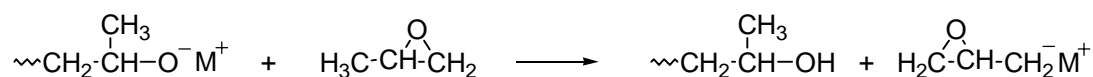


Abhängig von den relativen Geschwindigkeiten von Start-, Austausch- und Wachstumsreaktionen lassen sich mehrere Möglichkeiten unterscheiden:

- Keine Austauschreaktion: Die Startreaktion ist viel schneller als die Wachstumsreaktion. Das bedeutet, der Start ist abgeschlossen, bevor das Wachstum beginnt und alle Ketten haben die gleiche Zeit zum Wachsen. Daraus resultiert eine sehr enge Molekulargewichtsverteilung wie bei einer lebenden Polymerisation.
- Ist der Start ist sehr langsam, wachsen einige Ketten während andere noch nicht gestartet wurden, die Molekulargewichtsverteilung wird breiter aufgrund unterschiedlicher Wachstumszeiten für die einzelnen Ketten.

Die mit der anionischen Polymerisation bei Epoxiden erzielbaren Molmassen sind recht gering. Beim Propylenoxid werden Molmassen bis 5000, beim Ethylenoxid immerhin bis ca. 50.000 erreicht. Grund hierfür ist die recht geringe Reaktivität des Epoxid-Ringes gegenüber anionischer Kettenverlängerung und auch die unerwünschte Kettenübertragung. Letzteres tritt besonders stark bei substituierten Epoxiden auf. Bei der Übertragungsreaktion findet Wasserstoffabstraktion am Alkylsubstituenten des Epoxidringes statt, gefolgt von sehr schneller Ringöffnung, bei der ein Allylether Anion gebildet wird.

#### Übertragungsreaktion:

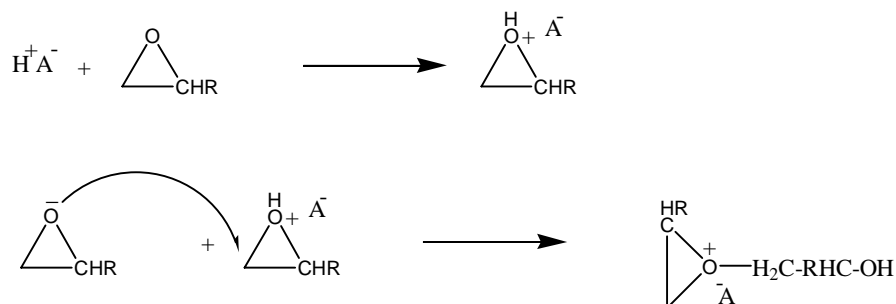


## Kationische Polymerisation:

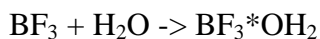
### 1) Startreaktion:

Als Initiatoren kommen zahlreiche Systeme in Frage, die in der Lage sind, das tertiäre Oxonium-Ion der Wachstumsspezies zu generieren:

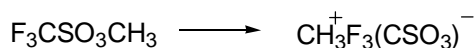
- Sehr starke Protonensäuren, z.B. konzentrierte Schwefelsäure, Trifluoressigsäure, Fluorsulfonsäure, Trifluormethansulfonsäuren. Das mit der Protonensäure korrespondierende Anion kann als Nukleophil wirken und mit dem Monomer in Konkurrenz treten.



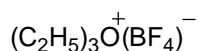
- Lewis-Säuren:  $\text{BF}_3$  oder  $\text{SnCl}_4$  fast immer mit Wasser als Koinitiator; der Koinitiator-Initiator-Komplex wirkt als Protonendonator, z.B.



- Carbeniumionen:  $\text{R}^+\text{A}^-$  statt  $\text{H}^+\text{A}^-$ , z.B.



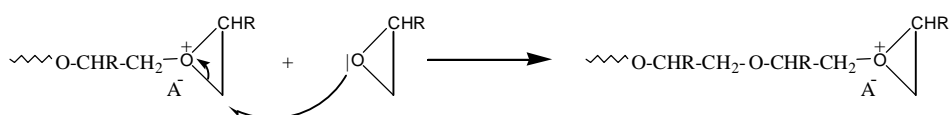
- Oxoniumionen: Triethyloxonium-tetrafluoroborat. Da das tertiäre Oxonium-Ion die eigentliche Wachstumsspezies ist, können auch vorgebildete Oxoniumionen die Polymerisation starten<sup>86</sup>, z.B.



- Organometallische Verbindungen wie Diethylzink und Triethylaluminium werden häufig benutzt, gewöhnlich zusammen mit Wasser oder Alkohol. Zwar kann Wasser aufgrund seiner Nukleophilie mit dem Monomer konkurrieren, was zum Abbruch führt, dennoch wird es häufig als Koinitiator eingesetzt. Mit Hilfe optisch aktiver Initiatoren konnten Epoxide bereits stereoselektiv polymerisiert werden<sup>87</sup>.

2) Wachstumsreaktion:

Das Wachstum bei der kationischen Polymerisation zyklischer Ether verläuft gewöhnlich über ein tertiäres Oxonium Ion. Das  $\alpha$ -Kohlenstoffatom ist partiell positiv geladen aufgrund des in Nachbarschaft befindlichen positiv geladenen Sauerstoffatoms. Die Wachstumsreaktion ist ein nukleophiler Angriff durch den Sauerstoff eines Monomermoleküls auf das  $\alpha$ -Kohlenstoffatom beim Oxonium-Ion. Diese nukleophile Reaktion ist eine  $S_N2$ -Reaktion für die meisten zyklischen Ether<sup>88</sup>.

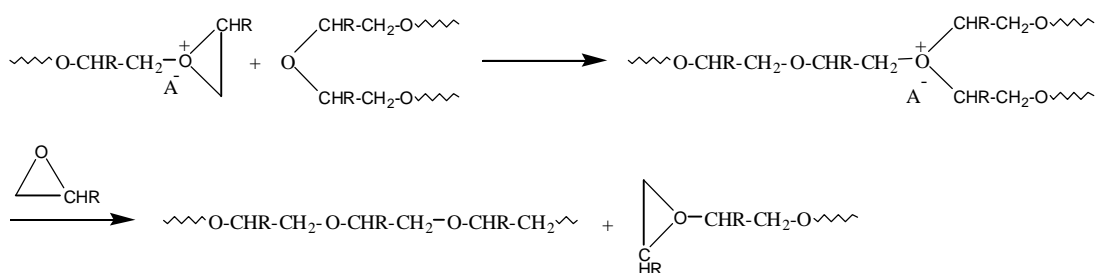


$A^-$  = Gegenion

Abbruchreaktion:

Unter bestimmten Bedingungen weisen Polymerisationen zyklischer Ether Charakteristika von lebenden Polymerisationen auf, die wachsenden Ketten sind langlebig und eine enge Molekulargewichtsverteilung wird beobachtet. Von lebenden Polymerisationen kann man sprechen, wenn die Startreaktion schnell ist im Vergleich zur Wachstumsreaktion.

Abbruchreaktionen können durch vielerlei Ereignisse eintreten. So kommen Kettenübertragungsreaktionen vom Polymer via Alkyltausch häufig vor, die kinetische Kette bleibt jedoch davon unbeeinflusst. Diese Reaktion beinhaltet einen Alkyltausch zwischen dem wachsenden Zentrum (Oxoniumion) und einem Ether-Sauerstoffatom der Polymerkette.

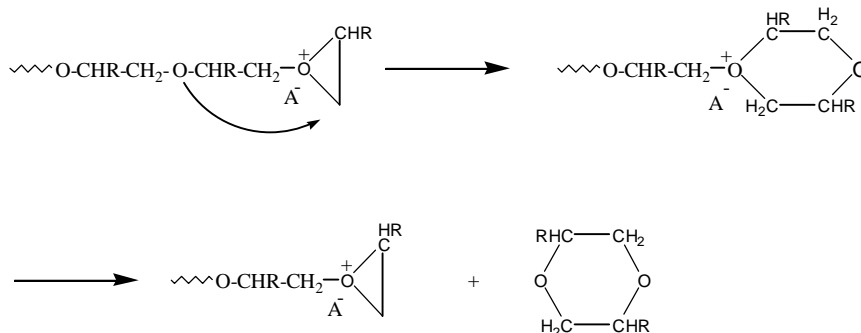


Die Übertragung kann sowohl inter- als auch intramolekular ablaufen. In beiden Fällen ist das Resultat eine Verbreiterung der Molekulargewichtsverteilung<sup>89</sup>.

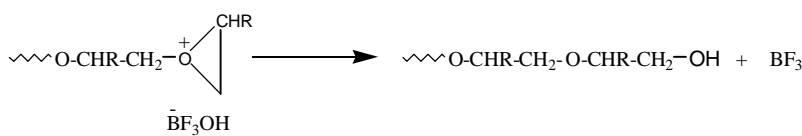
Die Bildung zyklischer Oligomere ist ebenfalls eine bekannte Nebenreaktion<sup>90</sup>. Sie sind auf eine intramolekulare Ringerweiterung („Backbiting“) zurückzuführen, in der ein



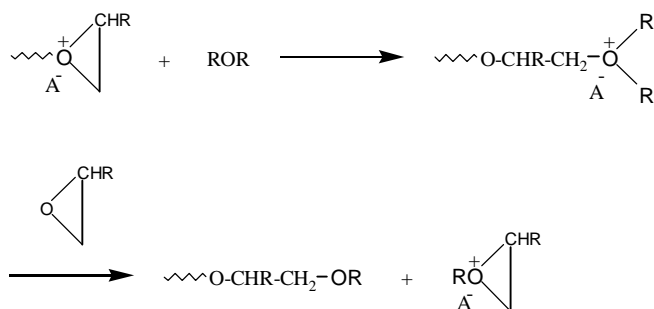
Sauerstoffatom der Polymerkette das  $\alpha$ -Kohlenstoffatom des Oxoniumions attackiert und ein größeres zyklisches Oxoniumion am Kettenende bildet. Das zyklische Oligomer bildet sich, wenn das Oxonium vom Monomer ersetzt wird. Große Substituenten haben jedoch erwartungsgemäß eine Verminderung dieser Nebenreaktion zur Folge, da aufgrund sterischer Hinderung die nukleophile „Rückbiß-Reaktion“ erschwert wird.



Ein Abbruch kann ebenfalls durch ein anionisches Bruchstück des Gegenions erfolgen:



Eine weitere Abbruchursache ist schließlich die Kettenübertragung mit dem Koinitiator (z.B. Wasser oder Alkohol) oder absichtlich zugefügtem Übertragungsreagenz<sup>91</sup>:



Der Einfluß der Temperatur hängt bei der Polymerisation zyklischer Ether stark vom jeweiligen Reaktionssystem ab. Veränderungen in Bezug auf Monomere, Lösungsmittel, Initiator, Koinitiatoren oder Promotoren entsprechen generell der ionischen Polymerisation von Alkenen. Steigende Temperatur führt auch fast immer zu einer Erhöhung der Reaktionsgeschwindigkeit. Die Auswirkungen auf den Polymeranteil sind jedoch komplexerer Natur. Meistens führen höhere Temperaturen zu kleineren Molekulargewichten, da die Geschwindigkeit von Abbruchreaktionen steigt. In manchen Fällen wird die Abbruchreaktion jedoch nicht bedeutend beeinflusst, während die Geschwindigkeit der Wachstumsreaktion steigt. Der Gesamtumsatz kann mit steigender Temperatur ebenfalls abnehmen, zum einen aufgrund thermischen Abbaus des Initiators, zum anderen aufgrund des bereits erwähnten Effekts der „Ceiling-Temperatur“.

## 5.2 Physikalische Polymercharakterisierung

### 5.2.1 Viskosimetrische Molekulargewichtsbestimmung

Löst man ein Polymer in einem Lösungsmittel, so steigt die Viskosität der Lösung als Funktion der

- Art des Lösungsmittels
- Art des Polymeren
- Molmasse des Polymeren
- Konzentration des Polymeren.

Durch Viskositätsmessungen allein lassen sich nur Änderungen des Molekulargewichts für polymer-homologe Reihen feststellen. Absolutwerte lassen sich mit Hilfe einer Eichkurve ( $[\eta]$ -M-Diagramm) ermitteln<sup>92,93</sup>.

Polymere erhöhen die Viskosität gegenüber der des reinen Lösungsmittels umso stärker je höher ihr Molekulargewicht ist. Einstein konnte bereits 1906 zeigen, daß die relative Viskosität  $\eta_{\text{rel}}$  einer Lösung bzw. Dispersion mit kugelförmigen Kolloidteilchen lediglich vom Volumenanteil  $\phi$  der gelösten oder dispergierten Phase abhängt. Die relative Viskosität gibt an, um welchen Faktor die Viskosität  $\eta$  der Lösung größer ist als die Viskosität  $\eta_0$  des Lösungsmittels (s. Gleichung 5-10).

*Gleichung 5-10:*

$$\eta_{\text{rel}} = 2,5\phi + 1 = \eta / \eta_0$$

mit

$$\phi = \frac{V}{V_L} = \frac{\text{Volumen der gelösten Partikel}}{\text{Volumen der Lösung}}$$

Das Einstein-Gesetz basiert auf dem Kugelmodell, daher beschreibt man bei seiner Anwendung auf makromolekulare Lösungen das Verhalten von äquivalenten Kugeln, d.h. von Kugeln, die in ihrer viskositätserhöhenden Wirkung den tatsächlich vorliegenden Knäueln gleichkommen. Man definiert also hypothetische kugelförmige Teilchen mit der äquivalenten Dichte  $\rho_{\text{äq}}$ , die keine Lösungsmittelmoleküle enthalten und die die gleiche Viskositätserhöhung hervorrufen, wie die tatsächlich vorkommenden Knäuel.

$$\phi = \frac{M}{\rho_{\text{äqu}[\eta]} V_L} = \frac{c}{\rho_{\text{äqu}[\eta]}}$$

mit :

M= Masse der Kettensubstanz (Polymerfäden)

$\bar{\rho}_{\text{äqu}[\eta]}$  = Dichte des lösungsmittelfreien Polymerknäuels

c= Konzentration der Polymerlösung

Eingesetzt in Gleichung 5-10 erhält man das Einstein'sche Viskositätsgesetz in folgender Form:

$$\eta_{\text{rel}} = (2,5 / \bar{\rho}_{\text{äqu}[\eta]}) * c + 1, \text{ bzw.}$$

$$\eta_{\text{rel}} - 1 = (2,5 / \bar{\rho}_{\text{äqu}[\eta]}) * c$$

$\eta_{\text{rel}} - 1$  wird als  $\eta_{\text{sp}}$  (Eta-spezifisch) bezeichnet:

Gleichung 5-11:

$$\eta_{\text{sp}} = \eta_{\text{rel}} - 1 = \frac{\eta}{\eta_0} - 1 = \frac{\eta - \eta_0}{\eta_0}$$

$\eta - \eta_0$  ist die Viskositätserhöhung, die bei einem Lösungsmittel durch das Auflösen einer makromolekularen Substanz hervorgerufen wird, und  $(\eta - \eta_0) / \eta_0 = \eta_{\text{sp}}$  ist daher die *relative Viskositätserhöhung*.

Das Einstein'sche Viskositätsgesetz erhält dann folgende einfache Form:

Gleichung 5-12:

$$\frac{\eta_{\text{sp}}}{c} = \frac{2,5}{\bar{\rho}_{\text{äqu}[\eta]}}$$

Diese Gleichung gilt nur, wenn sich die gelösten Teilchen gegenseitig nicht behindern, d.h. makromolekulare Lösungen müssen in großer Verdünnung vorliegen. Daher muß man die experimentell bestimmten  $\eta_{\text{sp}}/c$ -Werte gegen c auftragen und auf c=0 extrapolieren. Da die Viskosität makromolekularer Lösungen, besonders wenn es sich um Lösungen von Verbindungen mit sehr hohen Molekulargewichten handelt, merklich vom Strömungsgradienten G abhängen kann, muß streng genommen  $\eta_{\text{sp}}/c$  auch noch

bei verschiedenen Strömungsgeschwindigkeiten bestimmt und auf  $G=0$  extrapoliert werden. Den so ermittelten Grenzwert  $[\eta]$  bezeichnet man als Viskositätszahl oder Staudingerindex:

Gleichung 5-13:

$$[\eta] = \frac{\eta_{sp}}{c} = \frac{\eta_{rel} - 1}{c} = \frac{2,5}{\rho_{äqu[\eta]}}$$

$$c \rightarrow 0$$

$$G \rightarrow 0$$

Es ist ersichtlich, daß die Dichte der Polymerknäuel mit steigendem Staudingerindex abnimmt.

Die Extrapolation auf  $G=0$  ist bei Molekulargewichten unter 1 Million meist unnötig, da der Effekt in die Fehlergrenze der Messung fällt. Bei  $[\eta]$ -Werte über 300ml/g muß mit einem merklichen Einfluß des Strömungsgradienten auf die  $\eta_{sp}/c$ -Werte gerechnet werden.

Beim Staudingerindex (reduzierte Viskosität, Viskositätszahl) handelt es sich nicht um eine Viskositätsangabe, sondern um die der reziproken Knäuelichte proportionale relative Viskositätserhöhung. Die Größe besitzt die physikalische Einheit Volumen/Masse, sie mißt das von einer best. Masse Polymers eingenommene Volumen.

Im Bereich kleiner Konzentrationen, wo ein linearer Zusammenhang zwischen  $\eta_{sp}/c$  und  $c$  besteht, können empirische Potenzgleichungen aufgestellt werden, die nach dem 2. Glied abgebrochen werden<sup>94,95</sup>.

$$\eta_{sp}/c = [\eta] + k_H [\eta]^2 c \quad \text{Huggins}$$

$$\eta_{sp}/c = [\eta] + k_{SB} [\eta] \eta_{sp} \quad \text{Schulz-Blaschke}$$

$k_H$  bzw.  $k_{SB}$  sind Konstanten, die ein Maß für die thermodynamische Güte des Lösungsmittels darstellen.

Mark-Houwink-Beziehung:

Die Viskositätserhöhung beim Auflösen eines makromolekularen Stoffes ist der mittleren Teilchendichte umgekehrt proportional. Bei statistischen Knäueln ist diese keine Stoffkonstante, sondern die Dichte nimmt mit steigendem Molekulargewicht ab. Die Abhängigkeit der Dichte vom Molekulargewicht ist Voraussetzung, um  $[\eta]$  und  $M$  verknüpfen zu können. Bei idealen Knäueln gilt das KUHN'sche Wurzelgesetz:

$$\bar{\rho}_{\text{äqu}[\eta]} = K_{\text{äqu}[\eta]}^o * M^{-0,5}$$

$K_{\text{äqu}[\eta]}^o$  wird als Viskositätskonstante bezeichnet.

Also ist auch der Grad der Viskositätserhöhung bei solchen Systemen eine Funktion des Molekulargewichtes.

$$[\eta] = \frac{2,5}{K_{\rho[\eta]}^o * M^{-0,5}} = K_{[\eta]}^o * M^{0,5}$$

Dies ist das EINSTEIN-KUHN'sche Viskositätsgesetz für Lösungen mit idealen statistischen Knäueln in der logarithmierten Form:

$$\lg[\eta] = \lg K_{[\eta]}^o + 0,5 * \lg M$$

Bei doppeltlogarithmischer Auftragung findet sich  $[\eta]$  als Y-Achsenabschnitt und der Exponent 0,5 ist die Steigung der Geraden. Dieser ist allerdings nur bei einer bestimmten Temperatur, der  $\theta$ -Temperatur 0,5, während bei höheren Temperaturen höhere Exponenten gefunden werden (meist um 0,7). Die Knäuelndichte nimmt bei realen Systemen wegen der hier stets vorhandenen energetischen Wechselwirkungen zwischen Lösungsmittel und Polymerkette in der Regel nicht mit  $M^{-0,5}$  ab, sondern allgemein mit  $M^{-a}$ , wobei  $a$  meist zwischen 0,65 und 0,75 liegt; es gelten für reale Systeme also:

$$\bar{\rho}_{\text{äqu}[\eta]} = K_{\rho[\eta]} * M^{-a} \quad (\text{mittlere Dichte einer dem Knäuel äquivalenten Kugel})$$

$$[\eta] = K_{[\eta]} * M^a$$

Der Exponent  $a$  ist abhängig von der:

- Temperatur
- Art des Lösungsmittels
- Struktur des Polymeren.

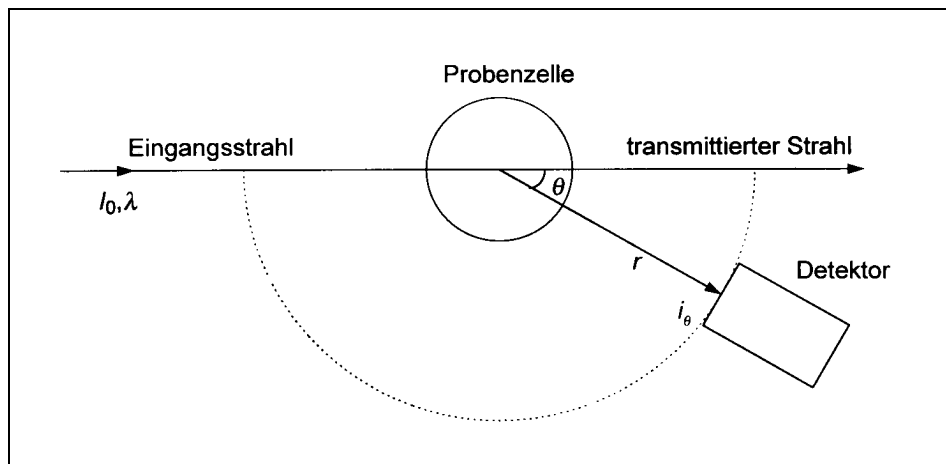
Die Gleichung  $[\eta] = K_{[\eta]} * M^a$  wird  $[\eta]$ -M-Beziehung genannt. Sie wurde mit  $a=1$  zuerst von STAUDINGER ohne Kenntnis der theoretischen Zusammenhänge formuliert, daher wird  $[\eta]$  auch oft als Staudinger-Index bezeichnet.

Der Exponent  $a$  liegt zwar normalerweise bei 0,65-0,75, kann aber in besonderen Fällen Werte zwischen 0 und 2 haben – letzteres gilt für den Grenzfall von starren Stäbchen. Werte zwischen 0 und 0,5 wurden bei Mikrogelen und hydrophobierten Polymeren<sup>96</sup> gefunden. Die nicht oder nur wenig solvatisierten, dicht verzweigten Moleküle des Glykogens, des Polysaccharids der Leber, zeigen keine Abhängigkeit der Dichte vom Molekulargewicht ( $a=0$ ). Die relativ steifkettigen Makromoleküle von Cellulose, Pektin und anderen linearen Polysacchariden, deren Knäuel besonders stark aufgeweitet sind, (hohe  $[\eta]$ -Werte und eine stark ausgeprägte Dichteabhängigkeit vom Molekulargewicht) zeigen  $a$ -Werte zwischen 0,95 und 1,2. Bei Polyelektrolyten mit besonders starren Struktureinheiten wurden  $a$ -Werte um 2 gefunden.  $A=1$  ist nur eine von vielen möglichen Abweichungen vom theoretischen Idealfall  $a=0,5$  und beinhaltet keine strukturellen Besonderheiten. Polymerketten können die verschiedensten Grade von Wechselwirkungen mit dem Lösungsmittel und sterischen Behinderungen haben, die sich in verschiedenen  $a$ -Werten manifestieren.

### 5.2.2 Statische Lichtstreuung

Durchtritt ein Lichtstrahl eine Polymerlösung, so kommt es zu einer elastischen und einer inelastischen Lichtstreuung. Bei der Verwendung von vertikal polarisiertem monochromatischem Licht ermöglicht die Detektion des elastischen Anteils (gleiche Wellenlänge  $\lambda$  wie das einfallende Licht) die Bestimmung des Gewichtsmittels des Molekulargewichts  $\overline{M}_w$ . Dazu wird das Streulicht in Form der reduzierten Streulichtintensität  $R_\theta$  seitlich beim Winkel  $\theta$  detektiert.

Abbildung 5-4: Schema eines Streulichtphotometers<sup>97</sup>:



Ist der Knäeldurchmesser größer als  $\lambda/20$ , so ist die Intensität der Streustrahlung eine Funktion des Beobachtungswinkels  $\theta$ . Ursache dafür ist die Existenz mehrerer Streuzentren in großen Molekülen, was zu einer internen Interferenz führt, die abhängig vom Beobachtungswinkel ist.

Bei verdünnten Polymerlösungen gilt für die Abhängigkeit der reduzierten Streulichtintensität  $R_\theta$  die Zimm-Debye-Gleichung:

$$\frac{K \cdot c}{R_\theta} = \frac{1}{\overline{M}_w \cdot P_\theta} + 2 \cdot A_2 \cdot c + 3 \cdot A_3 \cdot c^2 + \dots$$

Die Konstante K steht dabei für folgende Gleichung:

$$K = 4 \cdot n_o^2 \cdot \pi^2 \cdot (dn/dc)^2 \cdot \lambda_o^{-4} \cdot N_A^{-1} \cdot p \cdot f$$

$R_\theta$  = reduzierte Streulichtintensität [ $\text{cm}^{-1}$ ]

$\theta$  = Streuwinkel [ $^\circ$ ]



$\overline{M}_w$	=	Gewichtsmittel des Molekulargewichts [g/mol]
$A_2, A_3$	=	2. bzw. 3. Virialkoeffizient [ $\text{bar} \cdot \text{cm}^3/\text{g}^2$ ]
$n_o$	=	Brechungsindex des Lösungsmittels [-]
$dn/dc$	=	Brechungsindexinkrement [ml/g]
$\lambda_o$	=	Wellenlänge des Primärlichtes im Vakuum [cm]
$N_A$	=	Avogadrokonstante
$P_\theta$	=	Streuungsfunktion
$P$	=	Polarisationsfaktor
$f$	=	Cabannes-Faktor

Bei einem statistischen Knäuel ist die Streufunktion außer vom Beobachtungswinkel  $\theta$  noch von der Wellenlänge des Lichtes in der Lösung  $\lambda_{\text{Lsg}}$  und vom mittleren Knäuel-durchmesser  $\sqrt{\overline{h^2}}$  abhängig. Für verschiedene Molekülformen läßt sich  $P_\theta$  wie folgt bestimmen:

$$\frac{1}{P_\theta} = 1 + \frac{1}{3} \cdot \left( \frac{4 \cdot \pi \cdot n_o}{\lambda} \right)^2 \cdot \langle R_G^2 \rangle_Z \cdot \sin^2\left(\frac{\theta}{2}\right)$$

$$\langle R_G^2 \rangle_Z^{1/2} = \text{Z-Mittel des mittleren quadratischen Trägheitsradius}$$

Für die Auswertung der Streulichtmessungen hat ZIMM ein Auswerteverfahren entwickelt, in dem prinzipiell zwei Extrapolationen in einem Diagramm vereinigt werden.

Dazu wird  $K \cdot c / R_\theta$  gegen  $(\sin^2(\theta/2) + \text{konst.} \cdot c)$  aufgetragen und bei konstanter Konzentration auf den Winkel  $\theta = 0$  und bei konstantem Winkel auf die Konzentration  $c = 0$  extrapoliert.

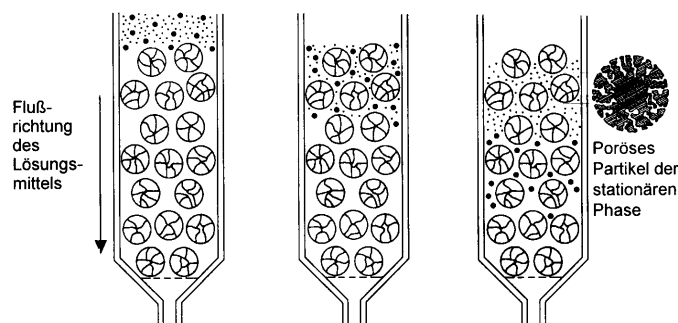
Aus einer Weitwinkellichtstreuungsmessung sind somit folgende Daten zu gewinnen:

- der 2. Virialkoeffizient  $A_2$  aus der Steigung der Konzentrationsabhängigkeit für die auf  $\sin^2(\theta/2) \rightarrow 0$  extrapolierten Werte,
- der mittlere quadratische Trägheitsradius  $\langle R_G^2 \rangle_Z^{1/2}$  aus der Steigung der Winkelabhängigkeit für die auf  $c \rightarrow 0$  extrapolierten Werte und
- das Gewichtsmittel  $\overline{M}_w$  der Molmasse aus dem Ordinatenabschnitt, in dem sich beide Extrapolationen treffen.

### 5.2.3 SEC

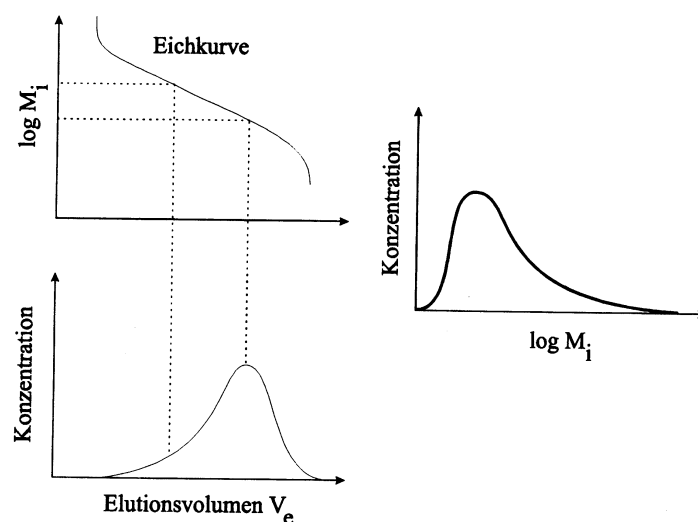
Die Ausschlußchromatographie, die auch als SEC (Size Exclusion Chromatographie) oder GPC (Gelpermeationschromatographie) bezeichnet wird, trennt polymere Moleküle nach ihrem hydrodynamischen Volumen. Dies geschieht in Lösung mit Hilfe poröser Teilchen definierter Porengröße (stationäre Phase). Großen Molekülen steht weniger Volumen zur Verfügung als kleinen Molekülen, sie verweilen daher nicht so lange auf der Säule und werden somit zuerst von der mobilen Phase eluiert<sup>98</sup>. Auf diese Weise ergibt sich eine Verteilung nach der Molekülgröße.

Abbildung 5-5: Schematische Darstellung der Trennung verschieden großer Moleküle an makroporösen Gelen durch SEC<sup>99</sup>:



Dabei hängt die Güte der Auftrennung von den Eigenschaften der stationären Phase (Porengröße, Porengrößenverteilung, Porenform) und der mobilen Phase ab. Daher ist für eine optimale Trennleistung jeweils eine individuell angepaßte stationäre und mobile Phase erforderlich. Im Unterschied zur Lichtstreuung stellt die SEC lediglich eine Relativmethode zur Molmassenbestimmung dar, so daß eine Kalibrierung mit einem geeigneten Polymerstandart notwendig ist (s. Abbildung 5-6).

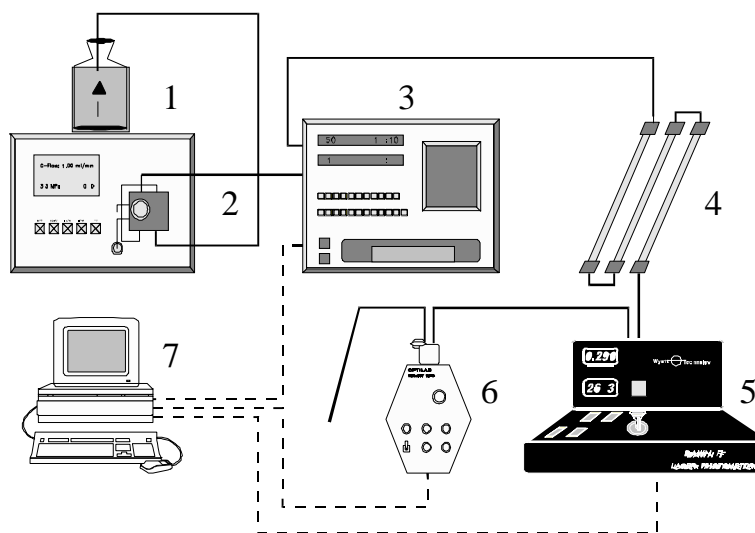
Abbildung 5-6: Bestimmung der Molmassenverteilung mittels Eichkurve und Konzentrationsdetektion.



### 5.2.4 SEC-LS-Kopplung

Durch die Kopplung der SEC mit einem Lichtstreuungsdetektor werden exakte Aussagen nicht nur über das durchschnittliche Molekulargewicht, sondern über die Molekulargewichtsverteilung der Probe möglich. Auch kann damit bei der Auswertung auf eine Eichkurve verzichtet werden.

Abbildung 5-7: Schema einer SEC-MALLS-Apparatur<sup>100</sup>:



1) Lösungsmittelvorrat

2) Pumpe

3) Probengeber

4) SEC-Säulen

5) Streulichtphotometer

6) Brechungsindexdetektor

7) Computer

—— = Kapillaren

----- = Datenverbindungen

Die verwendete SEC - MALLS (**M**ulti **A**ngle **L**aser **L**ight **S**cattering) – Apparatur (s. Abbildung 5-7) war dahingehend modifiziert, daß für die Messung von ionischen Polymeren die Trennsäule mit Hilfe eines 4-Wege-Hahns umgangen werden konnte. Durch einzelne Vermessung von Lösungen definierter Konzentration konnte mittels eines Zimm-Plots das mittlere Molekulargewicht bestimmt werden. Die dafür benötigten  $dn/dc$ -Werte mußten dann am Differentialrefraktometer in einer unabhängigen Messung ermittelt werden.

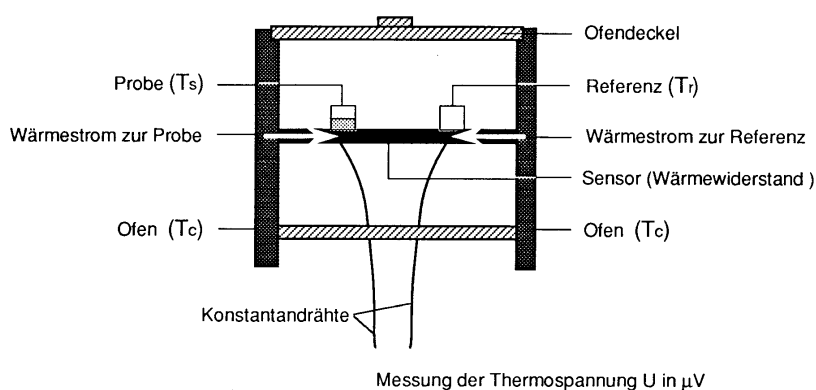
### 5.2.5 Elementaranalyse

Die Elementaranalyse ist eine Methode zur Bestimmung der Zusammensetzung von Copolymeren. Nach mehrtägiger Dialyse sind die Copolymeren von ausreichender Reinheit für eine Methode, die den Gewichtsanteil der Elemente Kohlenstoff, Wasserstoff und Stickstoff bestimmt. Das Einbauverhältnis der Comonomere wird über das C/N-Verhältnis bestimmt und ist somit vom Restwassergehalt unabhängig. Es ist dabei zu bemerken, daß die Ergebnisse der Elementaranalyse geringfügig schwankten, was sich somit auch auf die Ergebnisse der Copolymerzusammensetzungen auswirkte. Die Berechnung des Anteils von Monomer 1 im Polymer ist gemäß Gleichung 11-17 (s. Anhang 11.1) möglich.

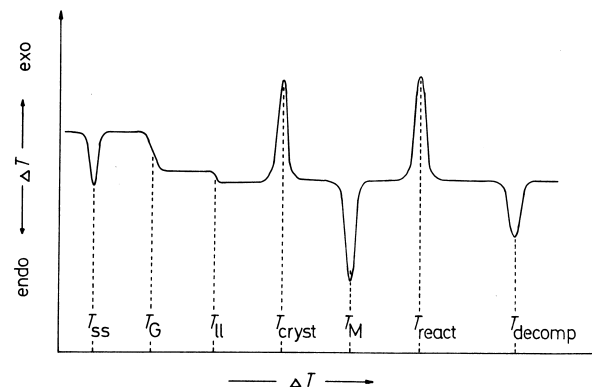
### 5.2.6 Differential Scanning Calorimetry (DSC)

Die Differential Scanning Calorimetry (DSC), gehört zu den Verfahren der thermischen Analyse<sup>101</sup>.

Abbildung 5-8: Aufbau der Meßzelle (Scheibenmeßsystem)<sup>102</sup>



Bei dieser Methode werden der Probe und der (indifferenten) Referenz gleichzeitig Wärme mit einem vorgegebenen Temperatur-Zeit-Programm zugeführt und die Wärmestromdifferenzen zwischen beiden gemessen. Der Aufbau einer Meßzelle wird in Abbildung 5-8 wiedergegeben. Wenn in der Probe eine exotherme (z.B. Kristallisation) oder endotherme (z.B. Zersetzung) Reaktion stattfindet, so wird ihre Temperatur über oder unter derjenigen der Vergleichssubstanz liegen (s. Abbildung 5-9). In dieser Arbeit wurde die dynamische Wärmestrom-Differenz-Kalorimetrie angewandt, um die Glasübergangstemperatur (Glastemperatur) „ $T_g$ “ von Polymeren zu ermitteln.

Abbildung 5-9: Schematisches Thermogramm eines partiell-kristallinen Polymers<sup>104</sup>:

$T_{ss}$ : Umwandlungen fest/fest

$T_g$ : Glasumwandlung

$T_{ll}$ : Umwandlungen flüssig/flüssig

$T_{cryst}$ : Kristallisationsvorgänge

$T_M$ : Schmelztemperatur

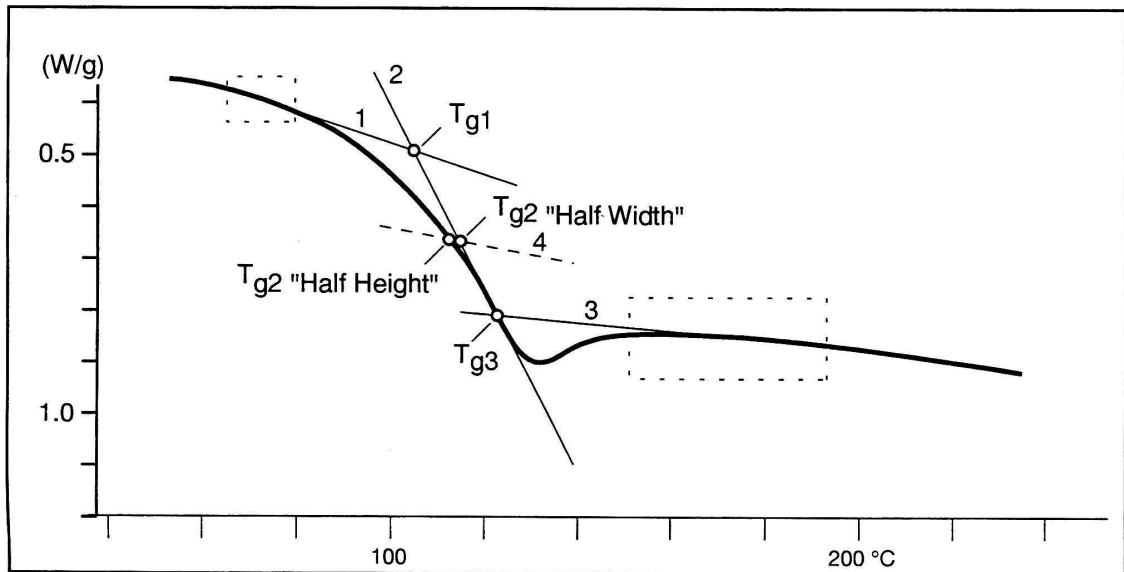
$T_{react}$ : Oxidation oder Vernetzung

$T_{decomp}$ : Zersetzung

Die Glasübergangstemperatur ist die Temperatur, bei der amorphe oder teilkristalline Polymere vom flüssigen oder gummielastischen Zustand in den hartelastischen oder glasigen Zustand übergehen oder umgekehrt. Ursache für dieses Phänomen ist das Einfrieren oder Auftauen der Brownschen Molekularbewegungen längerer Kettensegmente der Polymeren. Beim Erreichen der Glasstemperatur tritt eine durch Phasenumwandlung bedingte sprunghafte Änderung der spezifischen Wärme der Polymerprobe auf. Für die Lage der Glasstemperatur ist die Beweglichkeit der Polymerkette bestimmend. Diese hängt von zwei Faktoren ab: zum einen von der inneren Steifigkeit der Kette, zum anderen vom Grad der Festigkeit, mit der die benachbarten Ketten und Kettenstücke aneinander haften, d.h. von der Stärke der Nebenvalenzkräfte, die zwischen den Polymerketten wirksam sind<sup>103</sup>. Bei Polymerisationsgraden von unter einigen Hundert zeigt sich auch eine Abhängigkeit vom Molekulargewicht, da sich die größere Beweglichkeit der Kettenenden in zunehmenden Maße bemerkbar macht<sup>104</sup>. Der Übergang ähnelt einer thermodynamischen Umwandlung zweiter Ordnung. Man beobachtet einen mehr oder weniger ausgeprägten „Sprung“ der Wärmekapazität oder des Ausdehnungskoeffizienten. Aufgrund der starken Zeitffekte ist der Glasübergang allerdings keine echte thermodynamische Umwandlung, sondern eine „Relaxation“. Statistische Copolymere und Mischungen von miteinander kompatiblen Polymeren haben in der Regel nur *eine*  $T_g$ , die zwischen der der reinen Homopolymeren liegt. Blockcopolymere mit inkompatiblen Blöcken und Blends von inkompatiblen Polymeren weisen dagegen mehr als eine  $T_g$  auf<sup>105</sup>.

Die Glasstemperatur wurde in dieser Arbeit mittels „Half Height“-Methode bestimmt (s. Abbildung 5-10).

Abbildung 5-10 Auswertung der DSC-Glasumwandlung nach ASTM D3418<sup>106</sup>



Nach ASTM D3418 werden die Schnittpunkte der Basislinien mit der Wendetangente ausgewertet, wobei T<sub>g1</sub> und T<sub>g3</sub> die Schnittpunkte der Basislinien mit der Wendetangente sind. T<sub>g2</sub> ist der Schnittpunkt der Winkelhalbierenden mit der DSC-Kurve.

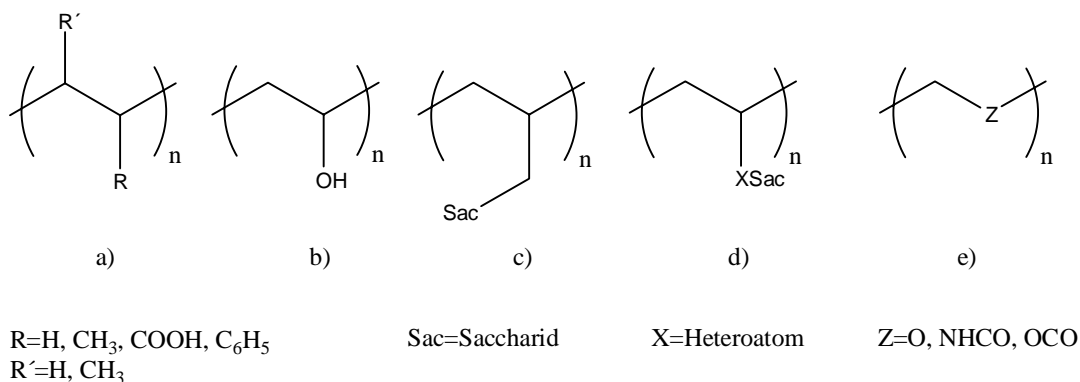
### 5.3 Biologische Abbaubarkeit

In der Literatur wird der Begriff der biologischen Abbaubarkeit unterschiedlich verwendet. Generell versteht man darunter eine Folge von Wechselwirkungen von organischen Substanzen, Organismen und der Umwelt, die unter gegebenen Umweltbedingungen zu einem Abbau der organischen Stoffe führen können. Wann jedoch betrachtet man einen Stoff als „abgebaut“? Die konsequenteste Definition führt zur vollständigen Mineralisation der abzubauenden Substanz, d.h. anorganische Salze, Wasser und Kohlendioxid sind die Endprodukte eines vollständigen biologischen Abbaus.

Der biologische Abbau von Polymeren ist ein alltäglicher Vorgang. Es ist wohl bekannt, daß lebende Organismen nicht nur Biopolymere wie Proteine, Nukleinsäuren oder Polysaccharide herstellen können, sondern daß sie ebenso in der Lage sind, diese abzubauen. Gewöhnlich werden die Abbauprodukte von anderen Organismen genutzt, um Energie zu produzieren oder neue Stoffe aufzubauen<sup>107</sup>.

Die biologische Abbaubarkeit ist dabei keinesfalls auf Stoffe rein biologischen Ursprungs beschränkt, noch garantiert die biologische Herkunft einen vollständigen biologischen Abbau, wie man an Kohle, Torf oder Erdöl sehen kann. Letztlich ist es die chemische Struktur einer Substanz, die bestimmt, ob ein Bioabbau stattfindet, denn der Hauptabbaumechanismus ist chemischer Natur. Lebende Organismen sind in der Lage, Enzyme zu produzieren, die Biopolymere attackieren können. Dieser Angriff ist in der Regel spezifisch, was sowohl das Enzym/Biopolymer-Paar als auch den Ort des Angriffs am Polymer angeht. Daher ist die Bildung spezifischer Abbauprodukte garantiert. Die Mehrzahl der synthetischen Massenkunststoffe ist weitgehend inert in Bezug auf biologisch enzymatischen Angriff. Grund ist ihre chemische Struktur, die mangels geeigneter Funktionalitäten keinen Ansatzpunkt für abbauende Enzyme liefert (s. Abbildung 5-11a).

Abbildung 5-11: Strukturtypen ausgewählter Polymere



Für viele Anwendungen ist diese Resistenz von Vorteil, z.B. bei Werkstoffen, die als Fensterrahmen oder Autostoßstangen Verwendung finden. Anders sieht es bei speziellen Werksstoffen (z.B. Abdeckfolie auf Feldern, chirurgisches Garn) und bei Wirk-/ und Hilfsstoffen aus, hier muß differenziert werden. Wasserlösliche Hilfsstoffe, wie z.B. Polyacrylamide und Polyacrylsäuren werden in großen Mengen in die Umwelt eingetragen und können sich aufgrund nicht stattfindenden biologischen Abbaus in der Umwelt anreichern und langfristig zu ökologischen Problemen führen. Ebenfalls kritisch zu betrachten sind Polymere, die in Pharmazie und Medizin eingesetzt werden. Hier muß sichergestellt sein, daß sie entweder vom Körper langfristig toleriert werden (künstliche Gelenke etc.) oder aber, daß sie vom Körper wieder ausgeschieden werden können. Für letzteres ist oft zumindest ein teilweiser Abbau (Molekulargewichtsverringern) Voraussetzung. Es gibt daher vielfältige Versuche, synthetisch hergestellte Polymere gezielt biologisch abbaubar zu machen. Dabei gibt es zwei grundsätzliche Vorgehensweisen. Ein Weg ist der Einbau von Heteroatomen in die Polymer-Hauptkette (Abbildung 5-11e), dieser wurde bei Polyethern, Polyestern, Polyamiden usw. beschritten<sup>108,109</sup>. Ein Vertreter einer anderen Klasse biologisch abbaubarer Polymere ist der Polyvinylalkohol (PVA)(s. Abbildung 5-11b). Dieses Polymer ist trotz seiner Kohlenwasserstoff-Hauptkette biologisch abbaubar<sup>110</sup>, und auch Copolymere<sup>111</sup> mit PVA können biologisch abbaubar sein, sofern sie Kettensegmente von fünf bis sechs PVA-Einheiten aufweisen. Letzteres erfordert allerdings einen PVA-Anteil von mehr als 80%<sup>112</sup>.

Polyvinylsaccharide basieren auf natürlichen Rohstoffen und enthalten damit Anteile von prinzipiell abbaubaren Komponenten. Abbauuntersuchungen an zwei Homopolymeren (s. Abbildung 5-11c)<sup>113</sup>, 1-Methacrylamido-(1-6)-isomaltit und 1-Acrylamido-(1-6)-isomaltit, haben gezeigt, daß der Abbau nach 4 Wochen mit 14% verhältnismäßig gering war.

Daraus erwuchs die Frage, ob in Analogie zum PVA ein Heteroatom in Nachbarschaft zur Polymerhauptkette die Abbaubarkeit verbessert (s. Abbildung 5-11d).

Die Abbaubarkeit ist keine ausschließlich vom Stoff bestimmte Eigenschaft, d.h. sie hängt nicht nur von der Art der Stoffe und der Organismen ab. Chemische Struktur, Stereoregularität, Molekulargewicht, Polydispersität, Wasserlöslichkeit und supramolekulare Struktur wie z.B. Kristallinität spielen zweifellos eine bedeutende Rolle. Biotische und abiotische Faktoren, also der physiologische Zustand der Organismen, die Konzentration des abzubauenen Stoffes, die Anwesenheit anderer organischer Stoffe sowie Klimafaktoren sind jedoch ebenfalls wichtige Parameter des biologischen Abbaus<sup>105</sup>. Bei der Bestimmung des biologischen Abbaus einer Substanz müssen daher streng kontrollierte Bedingungen eingehalten werden, um valide Ergebnisse zu erhalten. Mittlerweile haben sich einige Standardtestverfahren etabliert. Mittels Sturm-, MITI-, Sapromat-, oder Zahn-Wellens-Test wird das Erreichen gesetzter Abbaugrenzen nach einer Zeitvorgabe ermittelt.



Zur Bestimmung der biologischen Abbaubarkeit werden Kulturen von Mikroorganismen, Belebtschlämme oder andere Biozönosen mit dem zu untersuchenden Stoff (Testsubstanz) versetzt. Nach einigen Tagen oder Wochen (bis Jahren) wird das Verschwinden des Stoffes selbst (direkter Nachweis; Abkling-Test, die-away-test) oder mittelbar z.B. über den Sauerstoff-Verbrauch oder das Auftreten von Abbauprodukten, ein biologischer Abbau nachgewiesen. Der in dieser Arbeit verwendete Zahn-Wellens-Test wird im folgenden beschrieben.

#### Der Zahn-Wellens-Test (EN 29888):

Dieser Test, der den Status einer deutschen wie auch europäischen Norm hat<sup>114</sup>, beschreibt ein Verfahren zur Bestimmung der aeroben biologischen Abbaubarkeit organischer Stoffe im wässrigen Medium. Es ist anwendbar für Substanzen, die unter den Testbedingungen löslich und nicht flüchtig sind. Darüber hinaus darf kein Verlust durch Ausschäumen aus der Testlösung auftreten. Die organischen Substanzen sind, mit Ausnahme des Schlamms, die einzigen Kohlenstoff- und Energiequellen für die Mikroorganismen. Die Substanzkonzentration wird so gewählt, daß die Anfangskonzentration an gelöstem organischen Kohlenstoff (DOC) üblicherweise zwischen 50 und 400mg/l oder die des chemischen Sauerstoffbedarfs (CSB) zwischen 100 und 1000mg/l liegt.

Um mit der Einwaage im richtigen Bereich zu liegen, bedarf es der Kenntnis des theoretischen Sauerstoffbedarfes (ThOD), dieser kann aus der chemischen Zusammensetzung für den Fall ohne Nitrifikation nach folgender Gleichung berechnet werden:

$$ThOD = \frac{16[2C + \frac{1}{2}(H - Cl - 3N) + 3S + \frac{5}{2}P + \frac{1}{2}Na - O]}{Molmasse}$$

Für H, Cl, N, S, P, Na und O wird die Zahl der entsprechenden Atome aus der Summenformel der Verbindung eingetragen.

Die einzusetzende Menge Probensubstanz (in g) ergibt sich also als Quotient aus dem erwünschten CSB (in mg Sauerstoff/Liter Ansatz) und dem theoretischen Sauerstoffbedarf (in mg Sauerstoff/g Substanz):

$$\text{Einwaage} = \text{CSB}_{\text{soil}} / \text{ThOD}$$

Die Messung des DOC oder CSB findet zu Beginn und Ende des Tests, üblicherweise nach 28 Tagen, und mindestens zu drei weiteren Zeitpunkten innerhalb des Zeitintervalls statt. Aus der Bestimmung der prozentualen Abnahme des DOC oder CSB zu jedem dieser Zeitpunkte läßt sich die biologische Abbaubarkeit der Substanz ermitteln. Dabei wird der erste Meßwert nicht sofort, sondern erst nach 3 Stunden genommen, um die Adsorption der Testsubstanz am Klärschlamm zu berücksichtigen. Die Berechnung erfolgt gemäß Gleichung 5-14. Das experimentelle Vorgehen findet sich unter 9.10.

*Gleichung 5-14: Berechnung des biologischen Abbaus*

$$D_t = \left[ 1 - \frac{\rho_t - \rho_{Bl,t}}{\rho_x - \rho_{Bl,x}} \right] * 100$$

$D_t$  Elimination (in %) der Testsubstanz zum Zeitpunkt t

$\rho_t$  CSB-Wert im Inkubationsgefäß zum Zeitpunkt t

$\rho_x$  CSB-Wert nach 3 Stunden zum Zeitpunkt t

$\rho_{Bl,t}$  CSB-Wert im Blindwertansatz zum Zeitpunkt t

$\rho_{Bl,x}$  CSB-Wert nach 3 Stunden im Blindwertansatz

## 5.4 Immunologische Untersuchungen

### 5.4.1 Toxische Effekte bioaktiver Polymere auf humane Immunzellen

Die Toxizitätsprüfung der Testsubstanzen wurde unter Verwendung nichtradioaktiver Proliferationsassays (EZ4U) an humanen peripheren mononukleären Immunzellen (Lymphozyten, Monozyten) durchgeführt.

In dem verwendeten Assay wandeln lebende Zellen farblose bzw. schwach gefärbte Tetrazoliumsalze in intensiv gefärbte Formazanderivate um. Diese Reduktion erfordert intakte Mitochondrien, die innerhalb weniger Minuten nach dem Absterben der Zelle inaktiv werden. Daraus ergibt sich die Möglichkeit, vitale von abgestorbenen Zellen quantitativ zu unterscheiden. Die Inkubation der Immunzellen in Gegenwart der Testsubstanzen erstreckte sich über drei Tage.

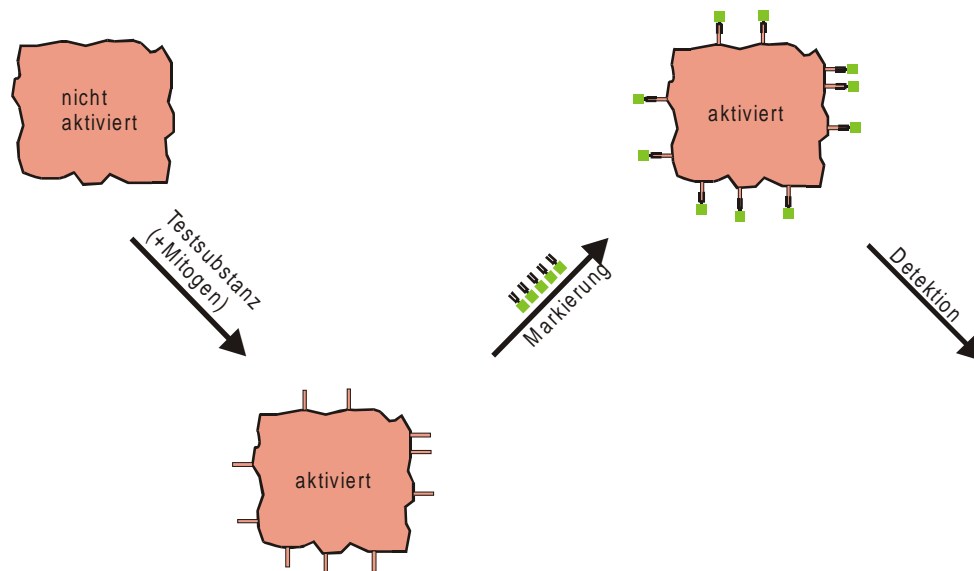
### 5.4.2 Einfluß der Polymere auf die funktionelle Aktivität von Lymphozyten

Das Immunsystem ist für den Menschen von vitaler Bedeutung. Die Bekämpfung von Infektionen ist ohne ein aktives Abwehrsystem nicht möglich<sup>115</sup>. Bei der Implantation hingegen sind Abstoßungsreaktionen, die auf eine Immunabwehr des Empfängers auf die körperfremden Zellen zurückgehen, gefürchtet. Allergien (Überempfindlichkeitsreaktionen) oder Autoimmunität (Abwehr gegen körpereigene Zellen) sind weitere Fälle, in denen eine Reduktion der Leistung des Immunsystems wünschenswert erscheint. T- und B-Lymphocyten sind dabei als Hauptvertreter der spezifischen Abwehr<sup>116</sup> von besonderer Bedeutung. Die Hauptfunktion der T-Lymphocyten liegt in der Sicherung der zellulären Immunität, gerichtet gegen Pilze und einige Bakterien wie auch gegen Tumore und Transplantate. Die B-Lymphocyten sind hingegen Vertreter der sog. humoralen Immunität und bilden Antikörper gegen die meisten Bakterien und körperfremde Zellen<sup>117</sup>.

Das verwendete Meßprinzip der Lymphocyten-Aktivierung ist in Abbildung 5-12 dargestellt. Die Zellen (B- und T-Lymphocyten) werden mit und ohne Mitogen - hier Phytohämagglutinin für T-Lymphocyten und Pokeweed-Mitogen für B-Lymphocyten - zusammen mit den Testsubstanzen inkubiert. Letztere wirken als unspezifische Aktivatoren, denn auch in vivo sind die Zellen in einem Zustand „zwischen Ruhe und Aktivierung“<sup>118</sup>. Der Aktivierungsstatus von B- und T-Lymphocyten kann anhand der Expression spezieller Oberflächenmoleküle gemessen werden. CD69 ist ein Glykoprotein, welches 6-16 Stunden nach Aktivierung auf der Zellmembran von T- und B-Zellen erscheint. Auf nicht aktivierten Zellen ist keine CD69-Expression nachweisbar. Die Methode der Durchflußzytofluorimetrie unter Nutzung spezifischer, fluoreszenzmarkierter monoklonaler Antikörper ermöglicht den simultanen Nachweis mehrerer Oberflächenmoleküle auf Einzelzellen. Dadurch ist es möglich, den Anteil aktivierter Zellen

in leukozytären Subpopulationen vor und nach Inkubation mit potentiellen Wirkstoffen zu analysieren<sup>119</sup>.

Abbildung 5-12: Meßprinzip der Lymphozyten-Aktivierung

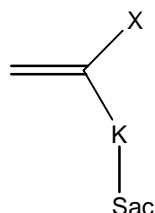


## 6 Ergebnisse und Diskussion - Polyvinylsaccharide und Polymethylvinylacetamid

Die in diesem Kapitel beschriebenen Untersuchungen befassen sich mit der anwendungsorientierten Synthese und Charakterisierung verschiedenen neuartiger Polyvinylsaccharid-Copolymere. Dabei wurde angestrebt, biokompatible Polymere mit guten biologischen Abbaueigenschaften zu erhalten, die anschließend auf ihre zellbiologischen Wirkungen untersucht werden sollten. Da diese Tests sehr zeitintensiv sind, konnte keine sich an Ergebnissen orientierende und dann optimierende Synthesestrategie verfolgt werden. Dies bedeutete, daß von vornherein ein gewisses Raster von Testsubstanzen hergestellt werden mußte. Durch Variation verschiedener Parameter (s. Kapitel 6.3) war es möglich, baukastenartig ein breites Spektrum an verschiedenartigen funktionalen Polyvinylsacchariden herzustellen und zu analysieren. Diese neuartigen Verbindungen konnten dann neben den biochemischen Tests auch im Hinblick auf ihre physikochemischen Eigenschaften mit bereits existierenden Polyvinylsacchariden verglichen werden.

Polyvinylsaccharide werden durch Polymerisation von Monomeren des folgenden Strukturtyps erhalten (Abbildung 6-1):

Abbildung 6-1: Strukturtyp der Vinylsaccharid-Monomere



X: H, CH<sub>3</sub>, COOH

K: Amid, Ester, Ether, Harnstoff

Sac: Saccharidseitengruppe

Zur Synthese bedarf es eines monofunktionalisierten Saccharids, welches mit geeigneten Vinylkomponenten umgesetzt werden kann. Die reduktive Aminierung bietet dabei eine elegante Möglichkeit, das Problem der Überfunktionalisierung durch die chemisch äquivalenten Hydroxylgruppen ohne Verwendung von Schutzgruppen zu lösen. Die eingeführte Aminogruppe ist chemisch signifikant reaktiver und es können stabile Bindungen mit zahlreichen reaktiven Gruppen gebildet werden.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden durch Kopplung mit Vinylisocyanat und Itaconsäureanhydrid polymerisierbare Monomere des Harnstoff- und Amidtyps hergestellt. Als Saccharidkomponenten wurden Lactose, Maltose und Saccharose gewählt.

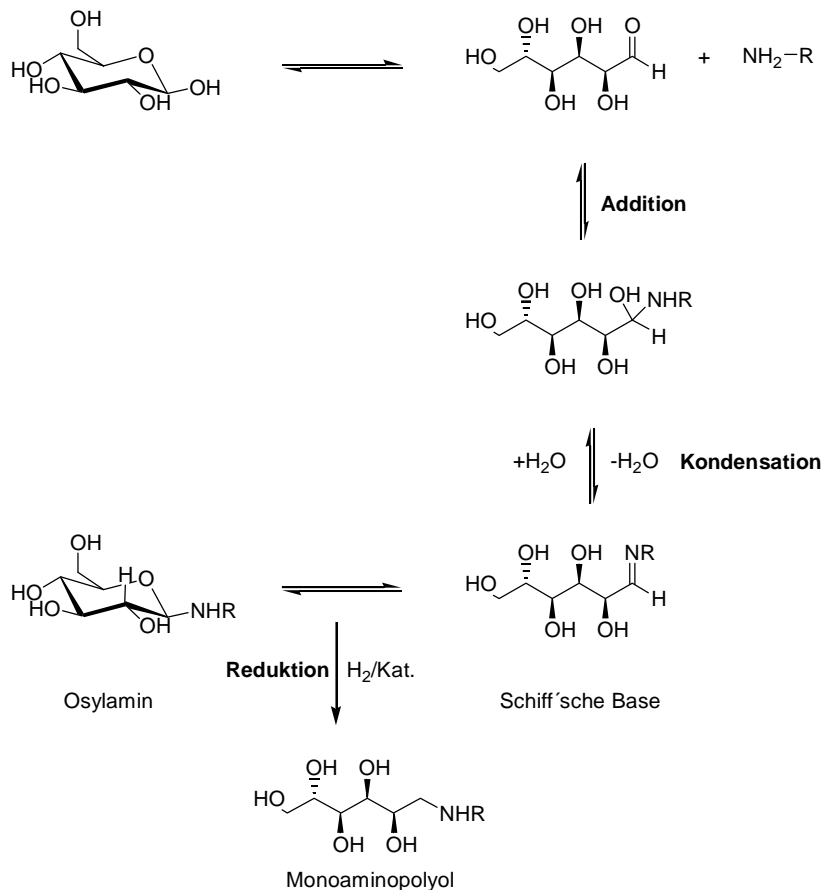
## 6.1 Reduktive Aminierung

Durch Umsetzung mit Ammoniak<sup>120,121,122,123</sup>, Hydrazin<sup>124</sup> oder Alkylaminen<sup>125,126,127,128,129</sup> und Raney-Nickelkatalysatoren unter Wasserstoffdruck im Hochdruckautoklaven können reduzierende Saccharide ohne Verwendung von Schutzgruppen in sogenannte Aminopolyole überführt werden.

Glucamin wird aus Glucose und Ammoniak seit längerem großtechnisch hergestellt<sup>130,131</sup>. Im Labormaßstab hat sich die Verwendung von Hydrazin als Aminokomponente bewährt, auch die 1-Aminoverbindungen von Lactose<sup>132,133</sup> und Maltose<sup>134</sup> konnten bereits in hoher Reinheit und Ausbeute hergestellt werden. Die Saccharose, ein nichtreduzierender Zucker, bedarf eines Zwischenschrittes. Buchholz et al. konnten auf dem Wege der mikrobiellen Biotransformation mittels *Agrobacterium Tumefaciens* eine Ketogruppe in 3-Stellung des Glucoseringes einführen<sup>135</sup> und diese 3-Ketosaccharose erstmals reaktiv aminieren<sup>136</sup>.

Die reductive Aminierung läßt sich in folgende Teilschritte untergliedern: Nucleophile Addition des Aminierungsmittels mit anschließender Kondensation. Hierbei entstehen Osylamine bzw. ihre Gleichgewichtsformen (Schiff'sche Basen). Im folgenden Schritt werden diese durch katalytische Hydrierung zum entsprechenden Aminopolyol reduziert (Abbildung 6-2).

Abbildung 6-2: Reduktive Aminierung am Beispiel von  $\beta$ -D-Glucose



## 6.2 Monomersynthese

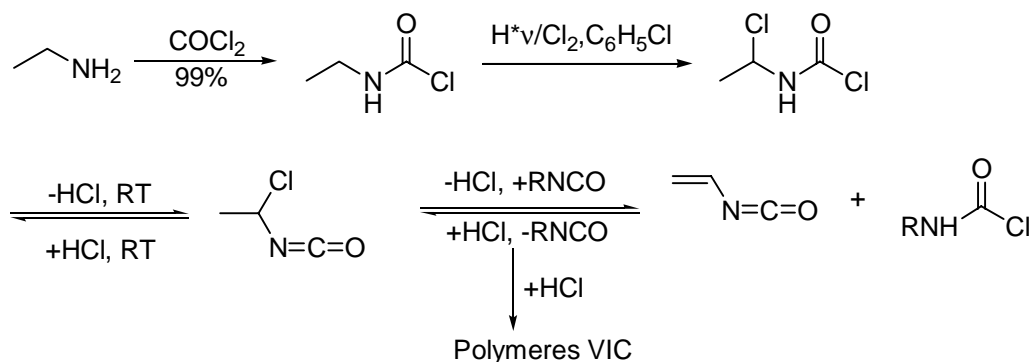
### 6.2.1 Harnstoffderivate

Das Vinylisocyanat (VIC) als einfachster polymerisationsfähiger Vertreter der Isocyanate stellt einen besonders reizvollen Reaktionspartner dar. Zum einen läßt sich damit die „Nichtsaccharid-Komponente“ minimieren, zum anderen lassen sich somit Vinylsaccharide synthetisieren, die ein Stickstoffatom direkt in Nachbarschaft zur Vinylgruppe aufweisen. Dies machte die erstmalige Herstellung von Polyvinylsacchariden möglich, bei denen nicht Kohlenstoff sondern ein Heteroatom erstes Atom der Seitenkette ist. In Analogie zum Polyvinylalkohol läßt sich eine verbesserte biologische Abbaubarkeit erwarten.

Leider ist VIC derzeit nicht kommerziell erhältlich und mußte aufgrund seiner hohen Reaktivität vor jeder Monomersynthese frisch hergestellt werden. Vinylisocyanat ist eine Verbindung, die ausschließlich aus sehr reaktiven Gruppen besteht: der polymerisationsfähigen Doppelbindung und der additionsfähigen Isocyanatgruppe. Es läßt sich somit sowohl ionisch, als auch radikalisch polymerisieren. Darüber hinaus läßt sich die sehr reaktive Isocyanatgruppe zum „Koppeln“ beispielsweise an eine Amino- oder Hydroxylgruppen nutzen. Die selektive Addition an die Aminofunktion gelingt durch Kopplung bei tiefen Temperaturen.

Die Synthese dieser interessanten Verbindung ist im technischen Maßstab mittels Hochtemperaturpyrolyse von Tris-(vinyl)isocyanurat<sup>137</sup> nur unbefriedigend zu realisieren. Eine elegantere Lösung bietet König<sup>138</sup> (Abbildung 6-3). Schlüsselsubstanz ist Ethylcarbamidsäurechlorid, das auch technisch leicht aus Ethylamin und Phosgen zugänglich ist. Dies wird bei tiefer Temperatur im Fallfilmreaktor selektiv  $\alpha$ -halogeniert, anschließend erfolgt doppelte Dehydrohalogenierung in Anwesenheit eines Hilfsisocyanats zum Entfernen der Salzsäure. Es handelt sich also um eine Ausgangssubstanz, die auch im technischen Maßstab bereitzustellen ist.

Abbildung 6-3: Vereinfachtes Reaktionsschema nach König



Für die Synthese im Labormaßstab wurde ein anderer Weg gewählt. Ausgehend von den preiswerten Edukten Acrylsäurechlorid und Natriumazid, kann das Vinylisocyanat über eine zweistufige Reaktionsfolge hergestellt werden (Abbildung 6-4). Zuerst findet eine nukleophile Substitution am Carbonylkohlenstoffatom statt, der zweite Schritt besteht aus einer Curtius-Reaktion, das heißt der thermisch induzierten Stickstoffabspaltung mit konzertierter Umlagerung (Abbildung 6-5).

Abbildung 6-4: Schema der VIC-Darstellung

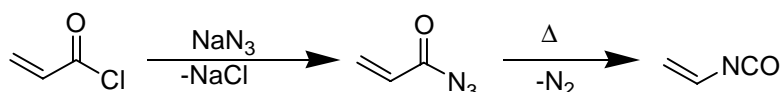
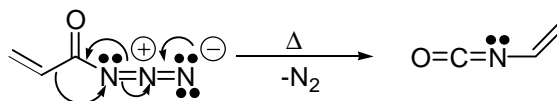


Abbildung 6-5: Mechanismus der Curtius-Umlagerung



Bei der Handhabung von Aziden müssen folgende Besonderheiten berücksichtigt werden<sup>139</sup>: Hitze, mechanischer Schock oder Reaktion mit einigen chemischen Reagenzien, z.B. konzentrierter Schwefelsäure, führt zur Zersetzung organischer Azide. Molekularer Stickstoff wird gebildet und mit diesem Prozeß geht die Freisetzung großer Energiemengen einher. Bei einer kontrollierten Zersetzung in Lösung wird diese Energie durch das Lösungsmittel absorbiert. In Abwesenheit eines solchen kann es zur Explosion kommen, es sei denn, die Energie wird von den organischen Bruchstücken aufgenommen. Je größer diese Bruchstücke, desto effektiver der Energietransfer. Hieraus resultiert die in der Regel höhere thermische Stabilität von Arylaziden verglichen mit Alkyl- oder Acylaziden. Zum Einschätzen der Empfindlichkeit von Aziden wurde in diesem Zusammenhang vorgeschlagen<sup>140</sup>, das Verhältnis (C+O)/N zu nutzen. Heftige Zersetzung kann demnach eintreten, wenn diese Relation kleiner ist als etwa 3:1. Im Falle des Acrylsäureazids ergibt sich 4:3, d.h. etwa 1,3:1, wonach ihm ein beachtliches Explosionspotential zuzuschreiben wäre.

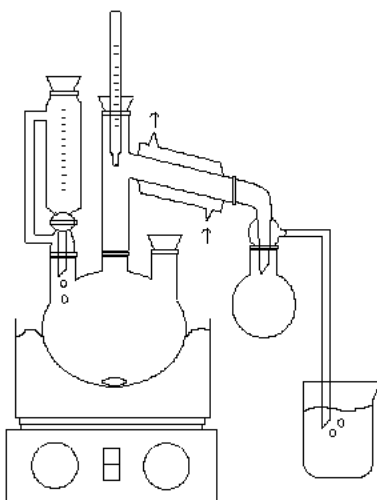
Da sich bei der praktischen Umsetzung zeigte, daß die in der Literatur erwähnten Laborvorschriften<sup>141,142,143,144,145</sup> in Bezug auf die VIC-Herstellung nur unzureichende Ergebnisse brachten, wurde eine Optimierung der bestehenden Methoden in Angriff genommen. Als Basis fungierte die Vorschrift von Hart<sup>146</sup>.

Das Problem der unterschiedlichen Polaritäten von Acrylsäurechlorid und Natriumazid konnte elegant gelöst werden, indem die Substitutionsreaktion unter Bedingungen der Phasentransferkatalyse (PTC) durchgeführt wurde. Dies hat zahlreiche Vorteile: Die Hydrolyse des Säurechlorids wird minimiert, überschüssiges Natriumazid kann einfach abgetrennt werden und da das Säureazid nie in Substanz vorliegt, ist der Umgang mit



ihm verhältnismäßig sicher. Dieser Schritt läuft nahezu quantitativ ab. Bei der Durchführung der Curtiusreaktion wurde anhand des bei der Reaktion entstehenden Stickstoffs eine Umsetzung von über 90% berechnet, dennoch konnte Vinylisocyanat anfangs nur in Spuren isoliert werden. Das Problem Isocyanate zu isolieren, ist weithin bekannt<sup>147</sup>. Je höherkonzentriert die VIC-Lösung ist, desto besser läßt sich das VIC abdestillieren. Die heftige Umsetzung, sowie das Explosionspotential vom Acrylsäureazid setzen hier jedoch eine Grenze. Folgendes Verfahren hat sich bewährt:

Abbildung 6-6: Apparatur für die Curtius-Reaktion



In einen heißen Kolben wird die Reaktionslösung eingetropft und kontinuierlich abdestilliert. Dadurch liegt das Azid immer nur in geringen Mengen vor, wodurch es möglich ist, trotz des hohen Explosionspotentials von Acrylsäureazid eine sehr konzentrierte Lösung zu verwenden. Um die besonders heftige Reaktion der ersten Tropfen unter Kontrolle zu bringen, ist das Vorlegen von 1ml Xylol opportun. Durch das kontinuierliche Abziehen verarmt die Lösung an VIC, das dadurch noch schwerer auszutreiben ist. Ein mehrfaches Wechseln des Kolbens während der Reaktion, um eine Mindestkonzentration von VIC in der Lösung nicht zu unterschreiten, ist arbeitstechnisch unpraktisch. Mit der geschilderten Methode wurden Gesamtausbeuten von mehr als 30% erzielt.

#### Die synthetisierten Harnstoff-Derivate:

Das Vorgehen orientiert sich an der Arbeit von Haji Begli<sup>148</sup>, der mittels von der BASF zur Verfügung gestelltem Vinylisocyanat N-Vinyl-N'-1-desoxy-maltitol-harnstoff herstellte, ohne daß jedoch eine Polymerisation damit glückte. In der vorliegenden Arbeit gelang die Synthese von vinylisocyanatgekoppelten Saccharidmonomeren auf Basis von Lactose, Maltose und Saccharose, die anschließend erfolgreich copolymerisiert werden konnten. Die Reaktion von Aminopolyolen mit Vinylisocyanat führt zu Monomeren mit einer Harnstoffverknüpfung. Bei der Kopplung werden die Reaktivi-

tätsunterschiede der Amino- und Hydroxylgruppen der eingesetzten Saccharidderivate genutzt. Bei der gewählten Reaktionsführung wurden ausschließlich Monovinylverbindungen erhalten. Bei äquimolarem Einsatz können Urethanbildungen durch Reaktion des Isocyanats mit Hydroxylgruppen praktisch ausgeschlossen werden<sup>134</sup>. Die Reaktion verläuft sowohl in DMSO bei 20°C als auch bei Temperaturen um 0°C in Wasser schnell und selektiv.

Abbildung 6-7: Reaktionsschema für die Synthese der Harnstoffderivate

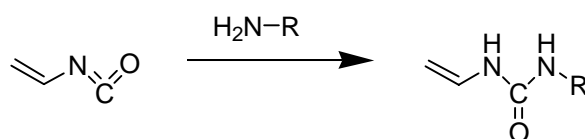
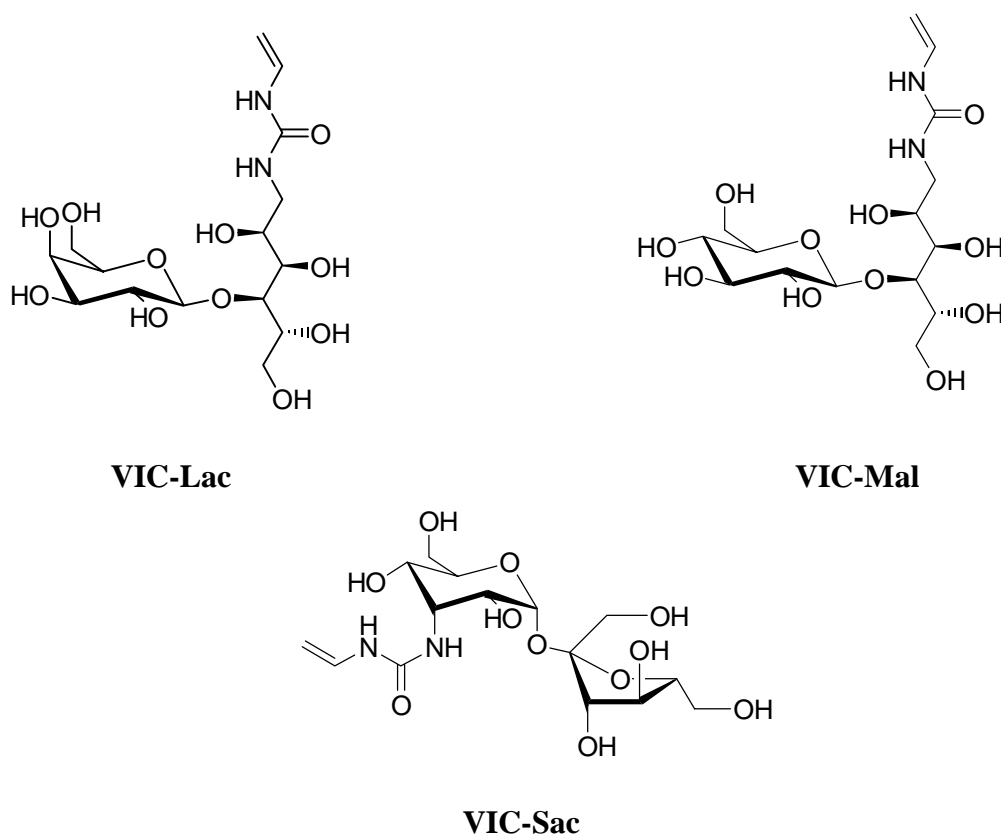


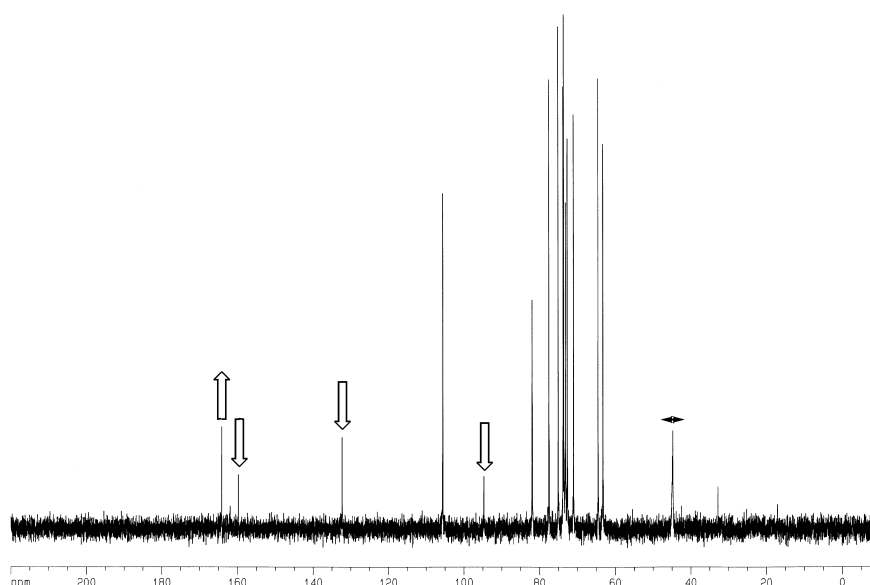
Abbildung 6-8 zeigt die auf diese Art und Weise synthetisierten Monomere.

Abbildung 6-8: Die synthetisierten Harnstoffderivate (VIC-Lac, VIC-Mal und VIC-Sac)



Bei der Reaktion ist unbedingt zu beachten, daß die Harnstoffmonomere in wäßriger Lösung dazu neigen, Di- oder Oligomere zu bilden, d.h. sie dürfen sich keinesfalls länger als nötig in Lösung befinden. Diese Tendenz ist in Methanol kaum ausgeprägt, jedoch ist die Löslichkeit von VIC-Lac in Methanol auch nicht besonders gut. Das folgende  $^{13}\text{C}$ -Spektrum demonstriert die Problematik.

Abbildung 6-9:  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum von VIC-Lac nach einem Tag in wäßriger Lösung



Die Intensität der Signale für die Doppelbindungen und das Carbonyl-Kohlenstoffatom haben sich signifikant verringert. Dafür zeigt sich ein neuer (quartärer) Peak und Bandenverbreiterung am C-1, dies deutet auf das Auftreten von Di- bzw. Oligomeren hin.

In früheren Arbeiten wurde zur Synthese von Polyvinylsacchariden mit Harnstoffbindung Isocyanatoethylmetacrylat (IEM)<sup>149,132</sup> verwendet. Die Kopplungsreaktion verläuft unter gleichen Bedingungen, von Dimerisierungsreaktionen in Lösung wird nicht berichtet.

Die wesentlichen Neuerungen gegenüber IEM betreffen vor allem drei Punkte. Die polymerisierbare Gruppe ist im Falle des VIC eine Vinylgruppe, beim IEM ein Methacrylat, daraus resultieren völlig unterschiedliche Polymerisationsverhalten. Kowalczyk hat auf Basis von IEM-gekoppelten Sacchariden problemlos hochmolekulare Homopolymere herstellen können, Haji Begli gelang mit VIC-Mal keine Polymerisation. Desweiteren ist die Harnstoffbindung von der polymerisierbaren Gruppe beim VIC nicht wie beim IEM durch einen Spacer getrennt. Die Harnstoffgruppe ist direkt mit der

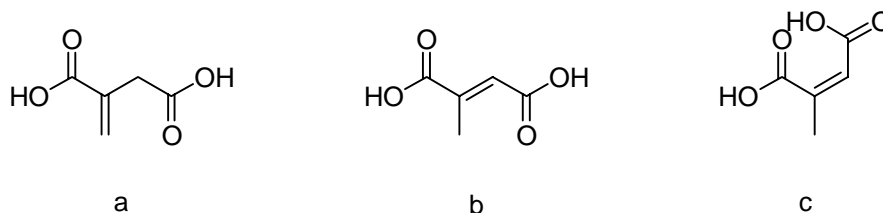
Doppelbindung verbunden, der Saccharidanteil im Monomer damit maximiert. Das Hauptziel ist jedoch die damit verbundene Anwesenheit des Stickstoffatoms in direkter Nachbarschaft zur Doppelbindung. Dies ermöglichte die Lösung der Aufgabe, Vinylsaccharidpolymere herzustellen, die in Analogie zum biologisch abbaubaren Polyvinylalkohol ein Heteroatom direkt an der Polymerhauptkette tragen.

### 6.2.2 Amidderivate

Alpha-(N-Acetamido-1-desoxy-lactitol)-acrylsäure (It-Lac A) und  $\alpha$ -( $\beta$ -Acetyl)-N-Acrylamido-1-desoxy-lactitol (It-Lac B):

Itaconsäure (Methylenbernsteinsäure), das Edukt der hier verwendeten Kopplungsgruppe, wurde erstmals 1836 aus dem Pyrolyseprodukt von Zitronensäure isoliert. Sie ist isomer zur Citraconsäure und zur Mesaconsäure. Alle drei Isomere (Abbildung 6-10) können sich bei erhöhten Temperaturen und unter stark basischen Bedingungen ineinander umwandeln. Die Itaconsäure dissoziiert in wässriger Lösung und liegt bei pH 4-5 als Monoanion und oberhalb pH 8 als Dianion vor.

Abbildung 6-10: Itaconsäure(a), Citraconsäure (b) und Mesaconsäure (c)



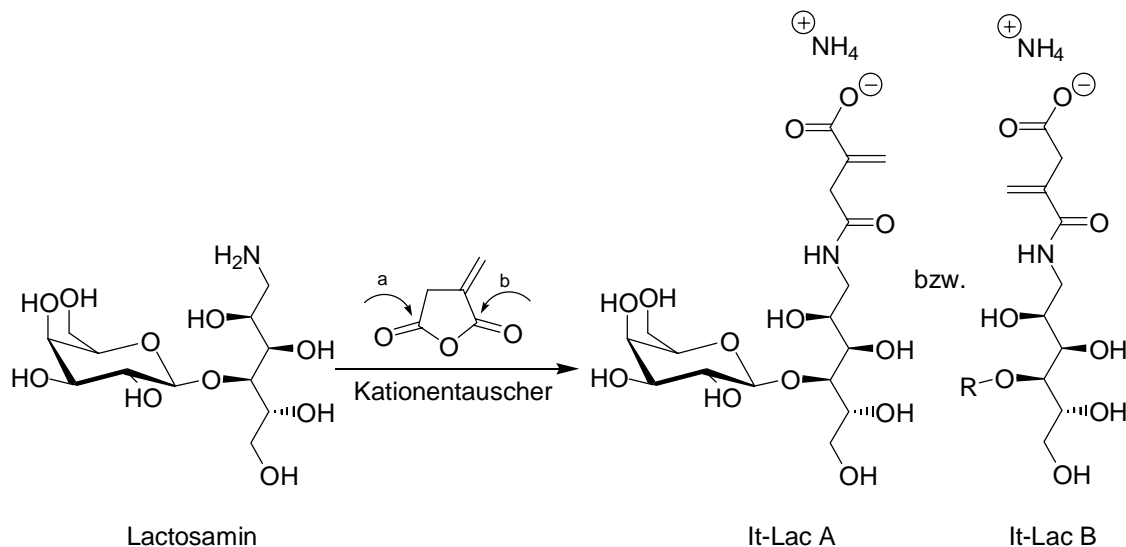
Kommerziell wird sie von *Aspergillus terreus* durch Fermentation von Kohlenhydraten aus ungereinigtem Rohr- oder Rübenzucker bzw. aus Melasse hergestellt<sup>150</sup>. Sie ist ein relativ ungiftiges Produkt ( $LD_{50}=4000\text{mg/kg}$ )<sup>151</sup> und ist daher als Comonomer in Verpackungsmaterialien für Lebensmittel zugelassen, da im Produkt vorhandenes Restmonomer gesundheitlich unbedenklich ist. Wegen guter werkstofflicher Eigenschaften wie physiologischer Verträglichkeit wird sie als Comonomer, nebst Füllstoffen, ebenfalls als Dentalzement eingesetzt<sup>152</sup>.

Das durch Wasserentzug aus der Itaconsäure darstellbare Itaconsäureanhydrid bietet sich als Kopplungskomponente daher sowohl unter dem Aspekt der Nachhaltigkeit wie auch bei der Zielrichtung Biokompatibilität/medizinische Unbedenklichkeit an. Anders als bei den bisher existierenden Polyvinylsacchariden ist das gesamte Polymer aus nachwachsenden Rohstoffen darstellbar.

Eine Kopplung von Aminopolyolen an Itaconsäureanhydrid führt zu anionischen Monomeren, wobei wegen ihrer Asymmetrie zwei Produkte möglich sind. Die Konjugation der C=C-Doppelbindung mit der nachbarschaftlichen Carbonylgruppe führt zu

einer Verringerung der positiven Partialladung an dieser Carbonylgruppe, daher ist It-Lac A das präferierte Produkt in Abbildung 6-11.

Abbildung 6-11: Angriffspunkte bei der Amidierung



Die Reaktion wird bei tiefen Temperaturen in wäßriger Lösung durchgeführt, um einen möglichst hohen Überschuß von Vic-Lac A zu gewinnen. Itaconsäureanhydrid ist verhältnismäßig unreaktiv, Ringöffnungen durch Hydroxylgruppen sind unter den gewählten Reaktionsbedingungen nicht zu befürchten. Im Zuge der Reaktion wird das Lactosamin von der entstehenden Säure protoniert und damit inaktiviert. Die Zugabe einer Hilfsbase ist daher für einen hohen Umsatz notwendig. Das Lactosamin selbst kann, im Überschuß eingesetzt, als Hilfsbase wirken. Das Entstehen unerwünschter Nebenprodukte läßt sich auf diesem Wege vermeiden. Nicht umgesetztes Saccharid läßt sich durch einen starken Kationentauscher vom Produkt abtrennen und zurückgewinnen. Die Ausbeuten - bezogen auf das eingesetzte Itaconsäureanhydrid - liegen über 70%.

Bei größeren Ansätzen ist der Einsatz des Kationentauschers nicht mehr praktikabel. In diesem Fall sollte überlegt werden, Hydrogencarbonate als Hilfsbase einzusetzen, falls die damit einhergehende, NMR-technisch nicht nachweisbare, Salzbildung tolerierbar ist.

### 6.3 Polymerisation

Vor dem Beginn der systematischen Polymerisationen stand die Entscheidung, welche Comonomere im Rahmen der Arbeit verwendet werden sollten. Die folgenden Verbindungen wurden auf Ihre Eignung als Comonomere für die Vinylharnstoffderivate geprüft.

- Acrylamid (AAm)
- Acrylsäure (AA)
- Acrylsäuremethylether (AAME)
- Acrylsäurehydroxyethylether (AHEE)
- Acryloylmorpholin (AM)
- Methylvinylacetamid (MVAA)
- Natriumacrylat (NaAA)
- Vinylimidazol (VI)
- Vinylpyrrolidon (VP)

Die Reaktion erfolgte in wässriger Lösung durch radikalische Lösungspolymerisation (Details siehe Kapitel 9.3).

Dabei konnten sowohl Acrylamid wie auch Methylvinylacetamid und Natriumacrylat mit den Vinylharnstoffsacchariden copolymerisiert werden. Die anderen Monomere polymerisierten entweder nicht zu hochmolekularen Polymeren oder sie ergaben nur die jeweiligen Homopolymere. Letzteres war bei Acryloylmorpholin und Acrylsäure der Fall.

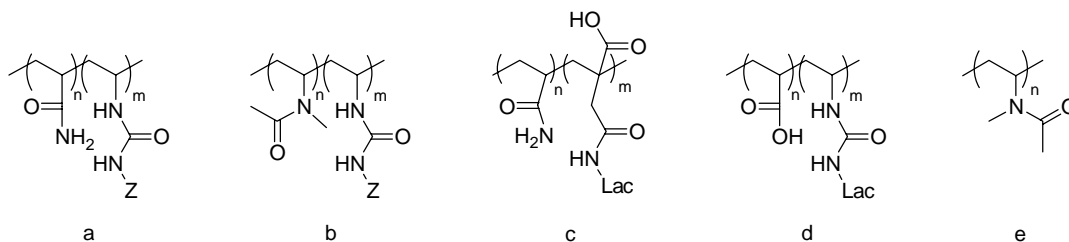
Um einen einfachen Weg zur Herstellung anionischer Copolymere mit Vinylharnstoffsacchariden aufzuzeigen, wurde exemplarisch ein Copolymer mit Natriumacrylat synthetisiert und charakterisiert. Ebenso wurde mit Acrylamid beispielhaft die Copolymerisationsfähigkeit der itaconsäuregekoppelten Saccharide demonstriert.

Da PMVAA nie zuvor in Wasser als Lösungsmittel polymerisiert wurde und auch keine systematischen Untersuchungen über Eigenschaften in wässriger Lösung zur Verfügung standen, wurden Polymethylvinylacetamide mit Polymergraden zwischen 900 und 11.000 hergestellt und charakterisiert.

Copolymere auf Basis von VIC-Lac, VIC-Mal, VIC-Sac, sowie It-Lac waren bis dato nicht bekannt und wurden in dieser Arbeit erstmals synthetisiert und umfassend charakterisiert.

Somit wurden Copolymere folgender Typen synthetisiert (Abbildung 6-12):

Abbildung 6-12: Strukturtypen der synthetisierten Polymere



Z=Lactose, Maltose, Saccharose

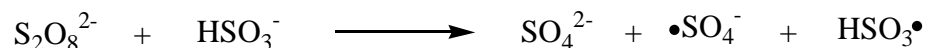
Die Polymerisationen wurden so durchgeführt, daß bei den im Rahmen dieser Arbeit genauer untersuchten Copolymeren vom Harnstoff-Typ (a und b) folgende Parameter systematisch variiert wurden:

- Polymergrad
- Art der Saccharideinheit
- Zuckereinbaurate
- Comonomer

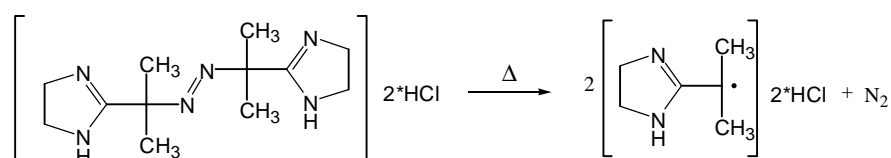
So war es möglich, durch die Verwendung weniger unterschiedlicher Elemente ein breites Spektrum strukturell unterschiedlicher Vertreter herzustellen. Diese Copolymere wurden umfassend physikochemisch charakterisiert. Bei einigen ausgesuchten Vertretern wurden zusätzliche Untersuchungen durchgeführt. Beim biologischen Abbautest wurde die Abbaubarkeit als Funktion obiger Parameter untersucht und als bedeutsamster Faktor die Zuckereinbauquote festgestellt (s. Kapitel 6.11). Andere Copolymere wurden bei einem Kooperationspartner in Bezug auf biologische Verträglichkeit und immunologische Effekte getestet. Alle untersuchten Stoffe waren zytotoxisch unbedenklich, einige modifizierten die Aktivität von B- bzw. T-Lymphozyten, waren also immunologisch aktiv (s. Kapitel 6.12).

Bei der Polymerisation der Harnstoff-Monomere muß bedacht werden, daß sie in Lösung di- bzw. oligomerisieren und daher mit der Zeit inaktiv werden. Die Handhabung muß daher besonders bei höheren Temperaturen relativ zügig von statten gehen.

Die Initiierung erfolgte bei den Vinylsaccharid-Acrylamid-Copolymeren mit dem Redoxsystem Ammoniumperoxodisulfat/Natriumdisulfit. Dieses System ist über ein Temperaturintervall von 0-50°C einsetzbar. Somit kann bei relativ tiefen Temperaturen polymerisiert werden, was entsprechend hohe Polymerisationsgrade ermöglicht. Die Radikale werden dabei nach folgender Reaktionsgleichung gebildet:



Für die Polymerisationen von Methylvinylacetamid wurde 2,2'-Azobis[2-(2-imidazolin-2-yl) propane]dihydrochloride (VA-044), ein wasserlöslicher Azoinitiator der Firma Wako, bei 60°C eingesetzt:



Zur Polymerisation wurden doppelwandige, thermostatisierbare Glasreaktoren verwendet. Durch entsprechende Ein- und Auslaßöffnungen konnte die Polymerisation unter Stickstoff-Atmosphäre erfolgen und der Initiator in gelöster Form zudosiert werden (Details siehe Kapitel 9.3).

Zur effizienten Bezeichnung der Copolymere wurde folgende Nomenklatur gewählt:

### **M1/M2(C<sub>M2</sub>)-Ini**

M1= Comonomer

M2= Saccharidmonomer

C<sub>M2</sub>= Anteil der Saccharidkomponente im Feed [Mol%]

Ini= Initiatorkonzentration [Mol%]

Die Bezeichnungen sind folgendermaßen zu lesen: Zuerst werden die verwendeten Comonomere genannt. In der Klammer hinter der Saccharid-Komponente steht der Anteil (in Mol%), der in der Polymerisationslösung an Saccharidkomponente vorlag. Die Zahl hinter dem Bindestrich gibt die Initiatorkonzentration (in Mol%) an. Dahinter wird in Klammern die Chargennummer angegeben, falls eine zweite Charge hergestellt wurde. AAm/Vic-Lac(50)-1(2) bedeutet also, daß AAm mit 50 Mol% VIC-Lac unter Verwendung von 1 Mol% des Initiators polymerisiert wurde. Die (2) kennzeichnet die



zweite Charge einer Polymerisation, die unter leicht geänderten Bedingungen wiederholt wurde.

#### Homopolymerisation von Methylvinylacetamid (MVAA) in Wasser:

Polymethylvinylacetamid ist zwar im Vergleich zum Polyacrylamid deutlich weniger bekannt, dennoch existieren vom hydrophilen Methylvinylacetamid sowohl interessante Homo- wie auch Copolymere. Die Copolymere werden beispielsweise bei der Tiefbohrzementierung<sup>153</sup> eingesetzt, auch existieren Anwendungsmöglichkeiten als festes Kulturmedium für Pflanzen oder Zellkulturen<sup>154</sup>. Das Homopolymer ist biologisch aktiv, es beeinflusst die Aktivität von Tyrosin Aminotransferase<sup>155</sup>.

Polymethylvinylacetamid wurde bisher lediglich in organischen Lösungsmitteln hergestellt (Butanol, Benzol), eine Polymerisation in Wasser war nicht beschrieben. Die Initiierung gelang nicht mit Redox, bzw. Peroxid-Startern. Mit dem wasserlöslichen Azoinitiator Wako/V-044 war es erstmals möglich, Methylvinylacetamid in Wasser (bei 60°C) zu polymerisieren. Die Verwendung von Wasser als Lösungsmittel bietet sowohl aus ökonomischer wie auch aus ökologischer Sicht Vorteile. Es wurden 10g Ansätze gefahren, die Ausbeuten lagen (nach Dialyse) zwischen 55 und 74%. Folgende Polymere wurden synthetisiert, dabei gibt die Zahl hinter dem Bindestrich die eingesetzte Initiatormenge in Mol% bezogen auf das Monomer an:

- PMVAA-0.01
- PMVAA-0.05
- PMVAA-0.1
- PMVAA-0.5
- PMVAA-1

Es wurden deren Viskositäten gemessen und die Molmassen mittels SEC/Lichtstreuung bestimmt. Mit diesen Daten wurde erstmals eine  $\eta/M$ -Beziehung für PMVAA aufgestellt. Die Werte wurden mit Literaturwerten von PAAm verglichen.

Unter den gegebenen Bedingungen ließen sich mittels des geeigneten Azoinitiators hochmolekulare wasserlösliche Polymere mit Polymergraden zwischen 900 und 11.000 herstellen. Dabei stellte sich heraus, daß PMVAA bezüglich des Viskositätsverhaltens im wesentlichen mit Polyacrylamid vergleichbar ist (s.u.).

### Copolymerisation der Vinylsaccharide:

Bei der Copolymerisation mit Acrylamid oder Natriumacrylat wurde unter Verwendung des Redoxsystems Ammoniumperoxodisulfat/Natriumdisulfit bei 30°C in Wasser polymerisiert. Die verwendete Starterkonzentration von einem bzw. 0,1 Mol% ist auf die Summe der polymerisationsfähigen Gruppen bezogen. Die eingesetzten Saccharidanteile variieren zwischen 9 und 50 Mol%.

Die zweite Gruppe bei der Copolymerisation von VIC-Mal mit Acrylamid, die Saccharidanteile von 10 bis 70% abdeckt, wurde zur Bestimmung der Copolymerisationsparameter synthetisiert, daher wurde die Reaktion schon nach relativ geringen Umsätzen abgebrochen.

Bei der Copolymerisation mit Methylvinylacetamid (MVAA) wurde der wasserlösliche Azoinitiator Wako/VA-044 verwendet. Es wurde bei 60°C in Wasser polymerisiert, beim Einsatz von einem Mol% Starter und VIC-Lac-Anteilen von 10, 30 und 50 Mol%.

*Tabelle 6-1: Erstmals synthetisierte Vinylsaccharid-Copolymere*

<b>Lactose-Polymer</b>	<b>Maltose-Polymer</b>	<b>Saccharose-Polymer</b>
AAm/Vic-Lac(9)-1	AAm/Vic-Mal(10)-1	AAm/Vic-Sac(10)-1
AAm/Vic-Lac(10)-1	AAm/Vic-Mal(30)-1	AAm/Vic-Sac(30)-1
AAm/Vic-Lac(20)-1	AAm/Vic-Mal(50)-1	AAm/Vic-Sac(50)-1
AAm/Vic-Lac(30)-1	AAm/Vic-Mal(10)-1(2)	MVAA/Vic-Sac(10)-1
AAm/Vic-Lac(40)-1	AAm/Vic-Mal(30)-1(2)	MVAA/Vic-Sac(30)-1
AAm/Vic-Lac(50)-1	AAm/Vic-Mal(40)-1(2)	MVAA/Vic-Sac(50)-1
AAm/Vic-Lac(50)-1(2)	AAm/Vic-Mal(50)-1(2)	
AAm/Vic-Lac(10)-0.1	AAm/Vic-Mal(60)-1(2)	
AAm/Vic-Lac(50)-0.1	AAm/Vic-Mal(70)-1(2)	
MVAA/Vic-Lac(10)-1	MVAA/Vic-Mal(10)-1	
MVAA/Vic-Lac(30)-1	MVAA/Vic-Mal(30)-1	
MVAA/Vic-Lac(50)-1	MVAA/Vic-Mal(50)-1	
AAm/lt-Lac(9)-1		
NaAA/Vic-Lac(10)-0.5		

Sämtliche Polymere wurden viskosimetrisch sowie via Lichtstreuung charakterisiert. Es wurden ausnahmslos wasserlösliche Polymere erhalten, mit guten Ausbeuten für die AAm-Copolymere. Die Ausbeuten bei den auf MVAA basierenden Copolymeren waren aufgrund der bereits erwähnten Deaktivierung durch Dimerisierung bei den benötigten höheren Temperaturen signifikant niedriger als die ihrer AAm-Pendants. Auch in Bezug auf den Polymergrad unterschieden sich die mit AAm bzw. MVAA synthetisierten Copolymere. Während bei letzteren Polymergrade zwischen 100 und 600 resultierten, wurden für die AAm-basierten Substanzen Polymergrade zwischen 300 und 10.000 erreicht. Hierbei sind natürlich die unterschiedlichen Polymerisationsbedingungen zu berücksichtigen. In beiden Fällen fand ein verstärkter Einbau der Nichtsaccharid-Komponente statt.

## 6.4 Copolymerisationskinetik

Ein wichtiger Punkt zur Beschreibung der kinetischen Verhältnisse bei der Copolymerisation ist die Kenntnis der Zusammensetzung des Copolymeren als Funktion der Monomermischung. Die Copolymerisationsparameter  $r_1$  und  $r_2$  können mit verschiedenen Methoden ermittelt werden. Hier wurden die Methoden von Fineman und Ross sowie die von Kelen und Tüdös angewandt. Um zu gewährleisten, daß die Copolymerzusammensetzung nicht zwangsläufig der Zusammensetzung der Monomermischung entspricht, dürfen nicht zu hohe Umsätze erreicht werden. Bei der Methode nach Fineman und Ross sollten Ausbeuten (X) von 10%, bei der nach Kelen und Tüdös von 50%, nicht überschritten werden. Die Polymere aus Tabelle 6-2 wurden zur Bestimmung der Copolymerisationsparameter herangezogen:

Tabelle 6-2: Zusammensetzungen der Copolymere gemäß Elementaranalyse

Polymer	M <sub>1</sub> [%]	M <sub>2</sub> [%]	m <sub>1</sub> [%]	m <sub>2</sub> [%]	X [%]
AAm/Vic-Lac(9)-1	91	9	95	5	59
AAm/Vic-Lac(10)-1	90	10	95	5	69
AAm/Vic-Lac(20)-1	80	20	89	11	64
AAm/Vic-Lac(30)-1	70	30	82	18	60
AAm/Vic-Lac(40)-1	60	40	74	26	26
AAm/Vic-Lac(50)-1	50	50	62	38	28
AAm/Vic-Mal(10)-1(2)	90	10	95	5	54
AAm/Vic-Mal(30)-1(2)	70	30	84	16	46
AAm/Vic-Mal(40)-1(2)	60	40	77	23	37
AAm/Vic-Mal(50)-1(2)	50	50	68	32	32
AAm/Vic-Mal(60)-1(2)	40	60	59	41	38
AAm/Vic-Mal(70)-1(2)	30	70	47	53	32
AAm/Vic-Sac(10)-1	90	10	94	6	82
AAm/Vic-Sac(30)-1	70	30	80	20	63
AAm/Vic-Sac(50)-1	50	50	69	31	43
MVAA/Vic-Lac(10)-1	90	10	92	8	47
MVAA/Vic-Lac(30)-1	70	30	64	36	36
MVAA/Vic-Lac(50)-1	50	50	-	-	-
MVAA/Vic-Mal(10)-1	90	10	94	6	41
MVAA/Vic-Mal(30)-1	70	30	81	19	36
MVAA/Vic-Mal(50)-1	50	50	55	45	2
MVAA/Vic-Sac(10)-1	90	10	92	8	55
MVAA/Vic-Sac(30)-1	70	30	82	18	11
MVAA/Vic-Sac(50)-1	50	50	-	-	-

Aus diesen Werten wurden die in Tabelle 6-3 und Tabelle 6-4 aufgeführten Copolymerisationsparameter berechnet. Dabei ist zu beachten, daß die Ausbeuten nicht in allen Fällen unter 50% liegen. Ein anderer Punkt, der bei der Diskussion berücksichtigt

werden muß, ist die Zahl der Meßwerte. Negative r-Werte werden im Rahmen der Meßgenauigkeit mit Null angenommen.

Tabelle 6-3: Copolymerisationsparameter der Harnstoffderivate und Acrylamid

		AAm/Vic-Lac	AAm/Vic-Mal	AAm/Vic-Sac
Fineman & Ross*	r1	2,3	2,2	1,6
	r2	1,2	0,8	0,5
Kelen & Tüdös	r1	2,8	3,4	2,0
	r2	0,7	0,5	0,3
Mittelwert aus beiden	r1	2,6	2,8	1,8
	r2	0,9	0,6	0,4

\*gemittelte Werte aus beiden Fineman-Ross-Gleichungen

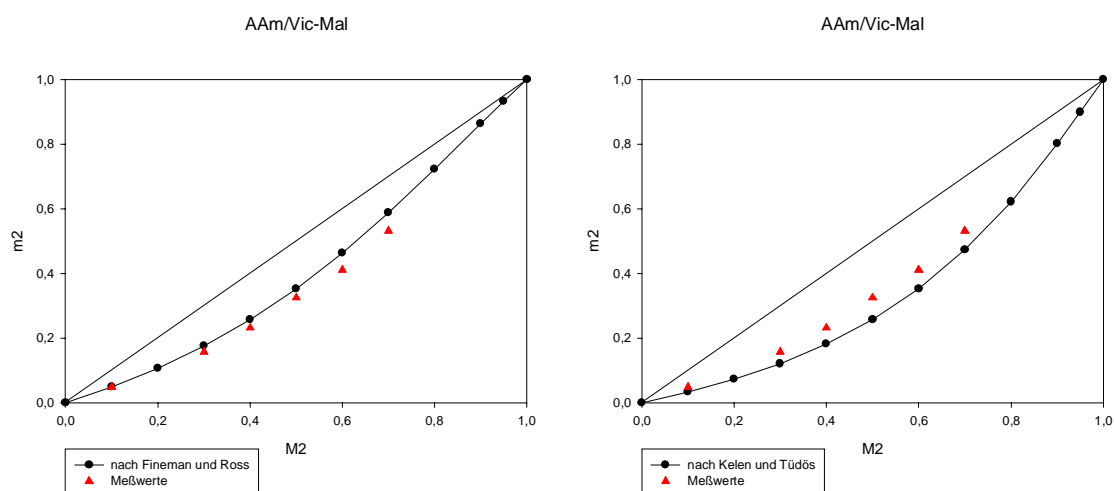
Tabelle 6-4: Copolymerisationsparameter der Harnstoffderivate und Methylvinylacetamid

		MVAA/Vic-Lac	MVAA/Vic-Mal	MVAA/Vic-Sac
Fineman & Ross*	r1	1,6	1,8	1,0
	r2	3,7	1,1	-0,5
Kelen & Tüdös	r1	3,3	2,5	0,6
	r2	4,0	0,9	-0,7
Mittelwert aus beiden	r1	2,5	2,2	0,8
	r2	3,8	1,0	-0,5

\*gemittelte Werte aus beiden Fineman-Ross-Gleichungen

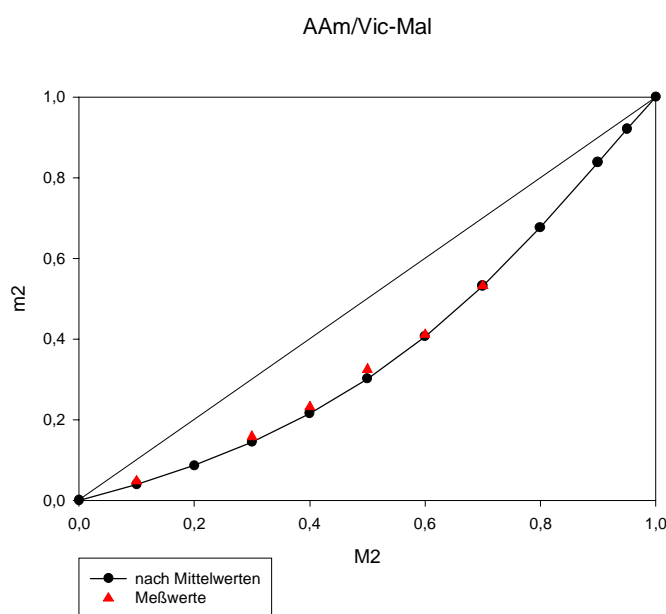
Mittels der r-Werte können die Copolymerisationsdiagramme wie z.B. für das System AAm/VIC-Mal in Abbildung 6-13 berechnet werden.

Abbildung 6-13: Copolymerisationsdiagramme nach Fineman und Ross bzw. Kelen und Tüdös



Bei der Auftragung der aus den  $r$ -Werten berechneten Copolymerisationsdiagramme fällt auf, daß die nach der Fineman-Ross-Methode berechnete Kurve oberhalb der Meßwerte liegt, d.h. real wird weniger VIC-Mal eingebaut als berechnet. Beim Diagramm nach Kelen und Tüdös ist es gerade umgekehrt, hier wird der Vic-Mal-Einbau unterschätzt. Da beide Vorgehensweisen auf mathematischen Methoden beruhen, die die Linearisierung der Copolymerisationsgleichung zum Ziele haben, ohne daß jeder dazu verwendete Parameter chemische Signifikanz besitzt, wurde getestet, ob durch einfache Mittelwertbildung der nach den beiden Methoden berechneten  $r$ -Werte eine bessere Näherung erreicht wird. Wie in Abbildung 6-14 ersichtlich, ist dies der Fall.

Abbildung 6-14: Copolymerisationsdiagramm, berechnet nach Mittelwerten aus beiden Methoden



Da die Mittelwertbildung beider Methoden auch in den anderen Fällen eine bessere Näherung bedeutete (s. Kapitel 11.2), werden die daraus ermittelten  $r$ -Werte für die Interpretation verwendet.

Bei den Acrylamid-Copolymeren resultieren  $r_1$ -Werte zwischen 1,8 und 2,8, die  $r_2$ -Werte bewegen sich zwischen 0,4 und 0,9. Auffällig ist zum einen die relativ große Schwankungsbreite. Die Monomere unterscheiden sich nicht in der polymerisierbaren Gruppe und sind ausnahmslos Disaccharide. Es kann also angenommen werden, daß die hohen Differenzen keine chemischen Ursachen haben. Die besten Bedingungen für eine fundierte Aussage bieten die Untersuchungen von AAm/VIC-Mal. Hier stehen am meisten Meßwerte zur Verfügung und die Umsätze sind mit einer Ausnahme unterhalb der kritischen Höhe. Die folgenden Überlegungen sollten also entsprechend auch für AAm/VIC-Lac und AAm/VIC-Sac gelten.

Der  $r_1$ -Wert von 2,8 sowie der  $r_2$ -Wert von 0,6 reflektieren die höhere Einbauwahrscheinlichkeit von Acrylamid verglichen mit den Vinylharnstoffsacchariden. Dieses

wird durch die nach unten durchgebogene Kurve im Copolymerisationsdiagramm visualisiert. Acrylamid ist also das deutlich reaktivere Monomer. Ein  $Q$ -Wert von 1,12 zeigt dies auch halbquantitativ. Von den Vinylharnstoffsacchariden können die  $Q$ - und  $e$ -Werte zwar leider nicht ermittelt werden (da  $r_1 \cdot r_2 > 1$ ), Vinylisocyanat jedoch hat einen  $e$ -Wert von  $-0,7$  und einen  $Q$ -Wert von  $0,16$ , sollte damit also, was die Polymerisation angeht, deutlich weniger reaktiv sein. Diese Werte korrespondieren qualitativ mit dem System AAm/1-Methacrylamido-(1-6'-isomaltit<sup>162</sup>, mit den Werten  $r_1=1,4$  und  $r_2=0,85$ .

Ein Grund für die ermittelte geringere Einbauquote beruht auf der Tatsache, daß die Vinylharnstoffsaccharide in wäßriger Lösung Di- bzw. Oligomere bilden. Es stehen zum Zeitpunkt der Polymerisation also immer effektiv weniger Zuckermomere zur Verfügung als angegeben. Dies führt zwangsweise zu einer gewissen Gewichtungsver-schiebung, wenngleich die generelle Tendenz wohl richtig wiedergegeben wird.

Bei der Interpretation der Werte für die MVAA/Vinylharnstoffsaccharide muß beachtet werden, daß die Di- bzw. Oligomerisierung bei  $60^\circ\text{C}$  naturgemäß in weit größerem Umfang stattfindet als bei  $30^\circ\text{C}$ . Der Einfluß der Inaktivierung der Monomere ist entsprechend stärker. Damit ist es deutlich schwieriger bzw. unmöglich, zum einen für alle Systeme die exakt gleichen Bedingungen zu gewährleisten und zum anderen Copolymere mit einem hohen Zuckeranteil herzustellen. Dadurch wird die Datenbasis sehr schmal, und die  $r$ -Werte als solche sind nicht nutzbar.

Dennoch zeigt Tabelle 6-2 für das System MVAA/VIC-Lac(30)-1 einen Einbau der Zuckerkomponente von 36%, d.h. hier findet eine leichte Anreicherung statt. Das entsprechende Copolymerisationsdiagramm wäre nach oben durchgebogen. Daß dies in den anderen Fällen nicht so ist, mag daran liegen, daß die Reaktionen eventuell geringfügig später gestartet wurden, daher schon mehr Inaktivierung stattgefunden hatte. Diese Hypothese wird auch von den  $Q$ - $e$ -Werten unterstützt, MVAA weist einen  $Q$ -Wert von  $0,062$  und einen  $e$ -Wert von  $-1,07$  auf<sup>156</sup>, sollte also weniger reaktiv sein als die VIC-Saccharide, wenn man  $Q=0,16$  für VIC als Vergleich nutzt.

Zusammengefaßt läßt sich also sagen, daß bei der Copolymerisation mit Acrylamid eine relative Anreicherung des Acrylamids im Polymer stattfindet. Im Falle der Reaktion mit Methylvinylacetamid ist dies von den Reaktivitäten der Monomere her nicht so, die Zuckerkomponente müßte angereichert werden. Die Berücksichtigung der Inaktivierung als Funktion von Zeit und Temperatur weist in die gleiche Richtung. Letztlich sind es jedoch nur eine Polymerprobe und die Betrachtung der  $Q$ / $e$ -Werte, die zu dieser Hypothese führen.

Zumindest aber kann gesagt werden, daß das Einbauverhalten bei der Copolymerisation mit MVAA keine Auffälligkeiten bietet.

## 6.5 Mittlere Sequenzlängen und Sequenzlängenverteilung

Mit Hilfe von Gleichung 5-8 können die mittleren Sequenzlängen der Repetiereinheiten in den Copolymeren berechnet werden, die Ergebnisse sind in Tabelle 6-5 festgehalten.

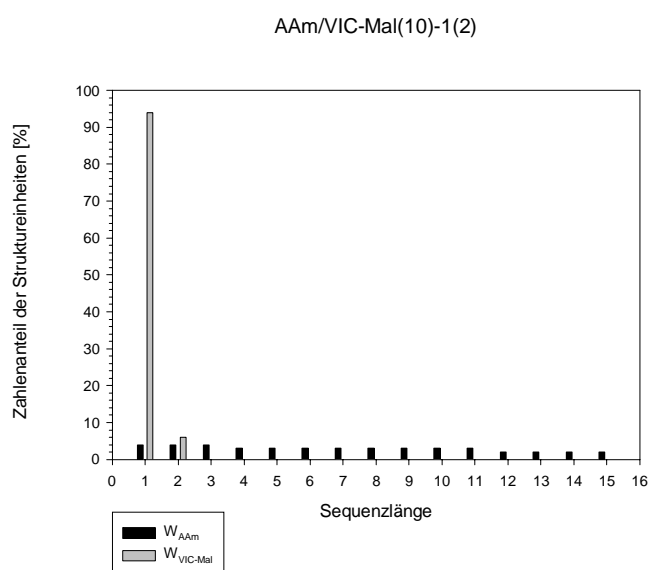
Tabelle 6-5: Mittlere Sequenzlängen der AAm/VIC-Mal-Copolymere

Polymer	m <sub>2</sub> [%]	$\bar{l}_1$	$\bar{l}_2$
AAm/Vic-Mal(10)-1(2)	5	26,2	1,1
AAm/Vic-Mal(30)-1(2)	16	7,5	1,3
AAm/Vic-Mal(40)-1(2)	23	5,2	1,4
AAm/Vic-Mal(50)-1(2)	33	3,8	1,6
AAm/Vic-Mal(60)-1(2)	41	2,9	1,9
AAm/Vic-Mal(70)-1(2)	53	2,2	2,4

Mit steigendem Vinylsaccharidanteil nimmt auch die Länge der Zuckersequenz im Copolymer langsam zu, während die Acrylamidsequenzlängen abnimmt. Bei einem Saccharidanteil von 5% im Copolymer folgen im Durchschnitt auf eine Zuckergruppe 26 Acrylamideinheiten. Die Ergebnisse reflektieren deutlich die höheren Additionsgeschwindigkeiten des Acrylamids ( $M_1$ ). Seine mittlere Sequenzlänge bei äquimolarer Monomerenmischung von  $\bar{l}_1 = 3,8$  ist im Vergleich zum Maltosemonomer ( $\bar{l}_2 = 1,6$ ) mehr als doppelt so hoch.

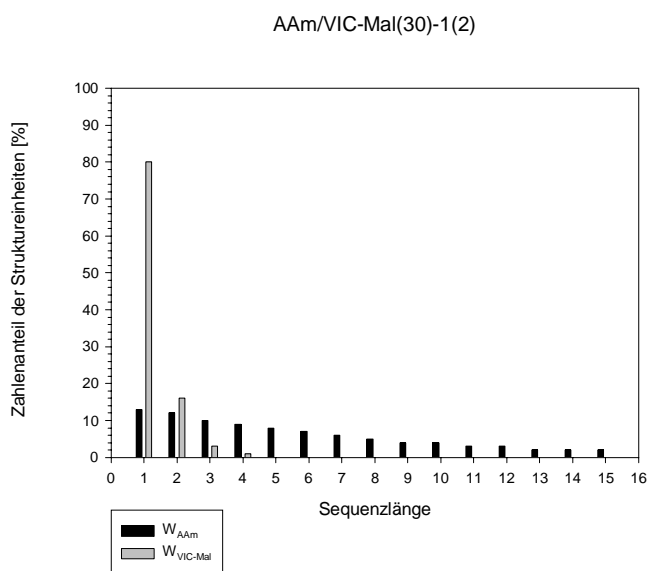
Einen besseren Überblick über die tatsächlichen Sequenzlängen der Copolymere bieten jedoch die mittels Gleichung 5-9 gewonnenen Sequenzlängenverteilungen. In Abbildung 6-15 bis Abbildung 6-18 werden die Zahlenanteile der Struktureinheiten über die Sequenzlängen für vier ausgewählte Copolymere aufgetragen.

Abbildung 6-15: Zahlenanteil der  $M_1$ - und  $M_2$ -Struktureinheiten als Funktion der Sequenzlänge für AAm/VIC-Mal(10)-1(2)



Aus Abbildung 6-15 geht hervor, daß in AAm/VIC-Mal(10)-1(2) fast ausschließlich (94%) einzelne Saccharidkomponenten vorliegen. Nur zu 6% sind sie in Zweiergruppen angeordnet. Ganz anders bei den Acrylamid-Bausteinen. Hier existiert eine sehr breite Verteilung. Einer- bis Dreiersequenzen sind mit 4% zwar am häufigsten vertreten, jedoch ist selbst die Existenz einer 53er Sequenz (nicht dargestellt) noch zu einem Prozent möglich. Die Maltosemoleküle sind also extrem stark „verdünnt“ durch die Acrylamidbausteine. Direkte Wechselwirkungen zwischen zwei Zuckereinheiten durch Nachbarschaftswechselwirkungen sind kaum vorhanden.

Abbildung 6-16: Zahlenanteil der  $M_1$ - und  $M_2$ -Struktureinheiten als Funktion der Sequenzlänge für AAm/VIC-Mal(30)-1(2)



Wie Abbildung 6-16 erkennen läßt, ist auch bei AAm/VIC-Mal(30)-1(2) noch eine starke Dominanz isolierter Saccharidgruppen vorhanden. Doch immerhin gibt es zu 16% Zweiersequenzen und sogar zu einem Prozent Vierersequenzen. Die Verteilung für die Acrylamideinheiten ist immer noch sehr breit. Zu 13% liegen einzelne Einheiten vor, aber es bestehen auch noch zu einem Prozent 24er Sequenzen (nicht dargestellt).



Abbildung 6-17: Zahlenanteil der  $M_1$ - und  $M_2$ -Struktureinheiten als Funktion der Sequenzlänge für AAm/VIC-Mal(50)-1(2)

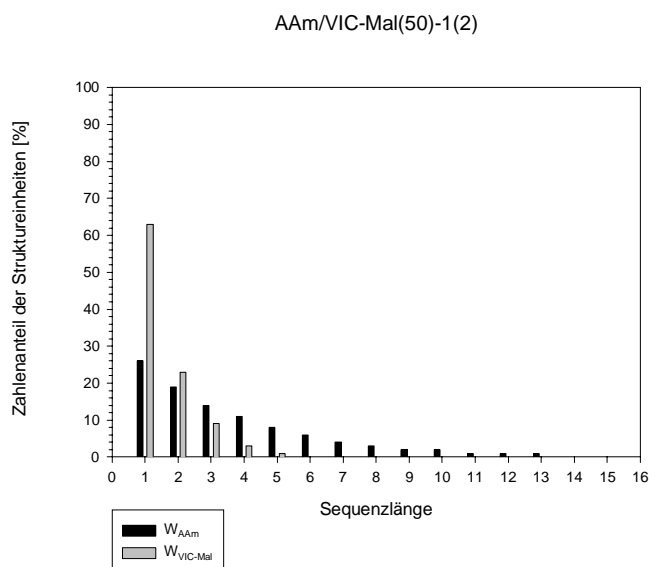
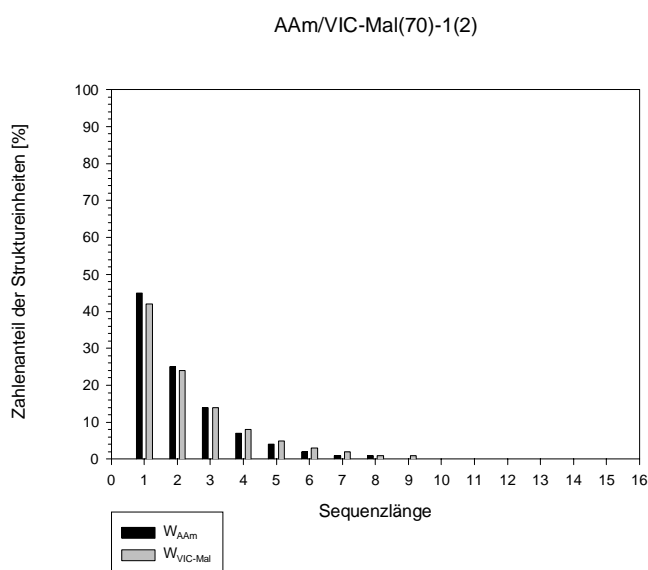


Abbildung 6-17 zeigt eine weitere Verbreiterung für die Verteilung der Saccharideinheiten, 63% sind von Acrylamideinheiten umgeben, 23% existieren in Zweier-, 9% in Dreiergruppen und immerhin ein Prozent liegt als Fünfergruppe vor. Die Sequenzlängen für Acrylamid haben sich entsprechend verkürzt. Zwar gibt es noch ein Prozent einer 13er Sequenz, doch das Gros (84%) liegt als Hexamer oder kleiner vor.

Abbildung 6-18: Zahlenanteil der  $M_1$ - und  $M_2$ -Struktureinheiten als Funktion der Sequenzlänge für AAm/VIC-Mal(70)-1(2)



Für AAm/VIC-Mal(70)-1(2) in Abbildung 6-18 schließlich gibt es etwas weniger (42% zu 45%) einzelne Saccharideinheiten als Acrylamideinheiten. Für die Einbauquote von 53% waren jedoch auch 70 Mol% Saccharidgehalt in der Monomermischung nötig. Di- und Triaden von Saccharideinheiten sind mit 24 bzw. 14% auch noch relativ häufig, die längste mit einem Prozent anzutreffende Sequenz ist ein Neunerblock. Selbst in diesem Polymer, daß den höchsten untersuchten Saccharidgehalt aufweist, sind Sequenzen, die über Diaden hinausgehen, nur zu einem Drittel vertreten. Wechselwirkungen der Zuckerbausteine untereinander, die auf die Primärstruktur zurückgehen, sind also selbst in diesem Falle verhältnismäßig selten. Dennoch dürfen selbstverständlich intramolekulare Wechselwirkungen aufgrund von Kettenfaltungen nicht vergessen werden. Darüber kann mit der Methode der Sequenzlängenverteilung ebenso wenig ausgesagt werden, wie über intermolekulare Wechselwirkungen. Hier wären erweiternde Untersuchungen spektroskopischer Art von Nöten.

## 6.6 Glasübergangstemperaturen

Die Glastemperaturen als Maß für die Kettenbeweglichkeit wurden für einige ausgewählte Polymere bestimmt und sind in Tabelle 6-6 dargestellt. Es wurden Vertreter aller synthetisierter Copolymerarten vermessen sowie als Referenz die Homopolymere von Acrylamid bzw. Methylvinylacetamid.

Tabelle 6-6: Die Glastemperatur ausgewählter Polymerproben

Substanz	T <sub>g</sub> [°C]	m2 [Massen%]
AAM/Vic-Lac(10)-1	184	21,9
AAM/Vic-Lac(30)-1	175	56,7
AAM/Vic-Lac(50)-1	168	78,1
AAM/Vic-Mal(10)-1	184	22,6
AAM/Vic-Mal(30)-1	177	50,0
AAM/Vic-Mal(50)-1	169	69,6
AAM/Vic-Mal(70)-1	160	86,8
AAM/Vic-Sac(10)-1	189	26,9
AAM/Vic-Sac(30)-1	185	59,1
AAM/Vic-Sac(50)-1	179	72,2
MVAA/Vic-Lac(10)-1	154	27,6
MVAA/Vic-Lac(30)-1	160	70,1
MVAA/Vic-Mal(10)-1	152	22,1
MVAA/Vic-Mal(30)-1	157	49,4
MVAA/Vic-Sac(10)-1	180	27,8
MVAA/Vic-Sac(30)-1	180	47,1
AAM/lt-Lac(9)-1	193	36,1
NaAA/Vic-Lac(10)-0.5	194	11,9
PMVAA-0.01	145	-
PAAm	191	-

In Abbildung 6-19 sind die Glastemperaturen der untersuchten Polymere in Abhängigkeit ihres Saccharidgehalts aufgetragen. Da nur zwei bis vier Proben innerhalb einer Copolymer-Reihe vermessen wurden, sind quantitative Aussagen mit Vorsicht zu betrachten, aber Tendenzen werden auf jeden Fall deutlich.

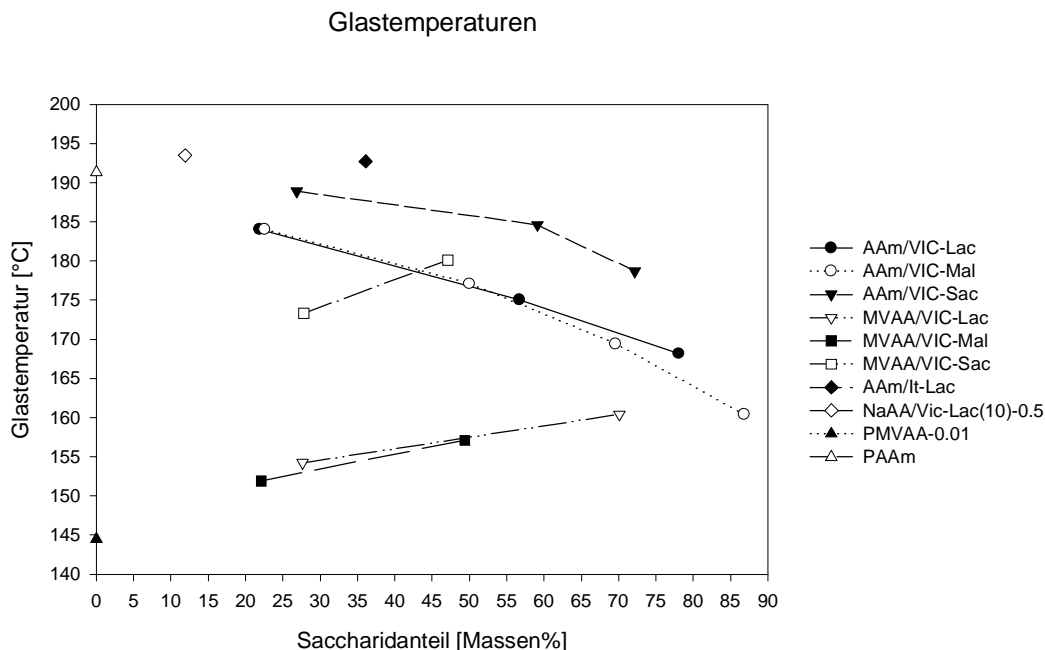
AAM/Vic-Lac und AAM/Vic-Mal-Copolymere weisen hinsichtlich des Kurvenverlaufs große Ähnlichkeiten auf. Bei beiden Reihen führt eine Erhöhung des Saccharidanteils zu einer Abnahme der Glastemperatur und dies auch in etwa gleichem Maße. Die eine Hydroxylgruppe, in der sich die beiden Saccharidbausteine voneinander unterscheiden, hat im festen Zustand hinsichtlich der Kettenbeweglichkeit anscheinend keine Relevanz.

Die AAM/VIC-Sac Copolymere zeigen die gleiche Tendenz, auch hier führt eine Erhöhung des Saccharidanteils zu einer Abnahme der Glastemperatur. Dies jedoch in einem signifikant geringeren Maße.

Vergegenwärtigt man sich die Struktur der Vinyl-Saccharideinheit, so fällt auf, daß VIC-Sac im Bereich der Anknüpfung der Saccharideinheit an die Hauptkette zwei

ringförmige Zucker aufweist und somit deutlich sperriger ist als VIC-Lac und VIC-Mal (s. Abbildung 6-20). Eine stärkere Behinderung der Kettenbeweglichkeit führt entsprechend zu einer höheren Glastemperatur.

Abbildung 6-19: Glastemperaturen ausgewählter Polymerproben in Abhängigkeit vom Saccharidgehalt



C. Hüttermann bemerkte beim Vergleich von 1-Methacrylamido-(1,6)-isomaltit mit N-Methacrylamido-1-desoxy-lactitol die gleiche Tendenz<sup>157</sup>. Die Abnahme der Glas-temperatur von Polyacrylamid durch Saccharideinbau ist laut Koblitz auf das Zerstören starker Wechselwirkungen zwischen den Amidfunktionen durch die voluminösen Zuckerbausteine zurückzuführen<sup>113</sup>. Zur Überprüfung dieser Hypothesen wurden die Molekülstrukturen der jeweiligen Saccharidmonomere mittels eines semiempirischen Verfahrens (PM3) optimiert, die Moleküloberflächen berechnet und dargestellt (s. Abbildung 6-21).

Abbildung 6-20: Strukturen der Harnstoffmonomere

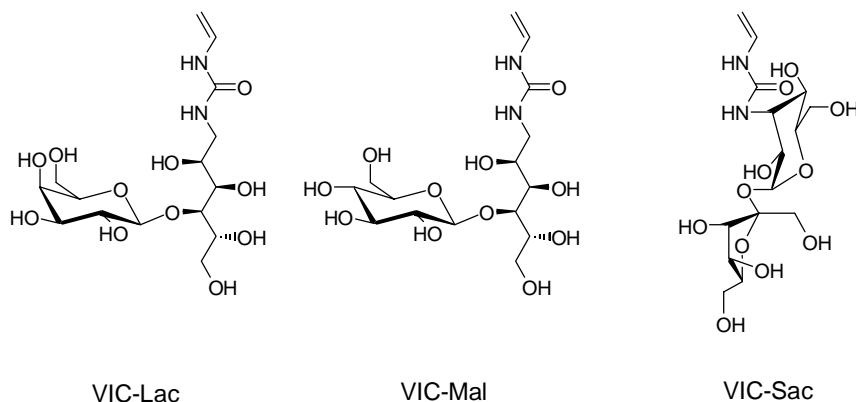
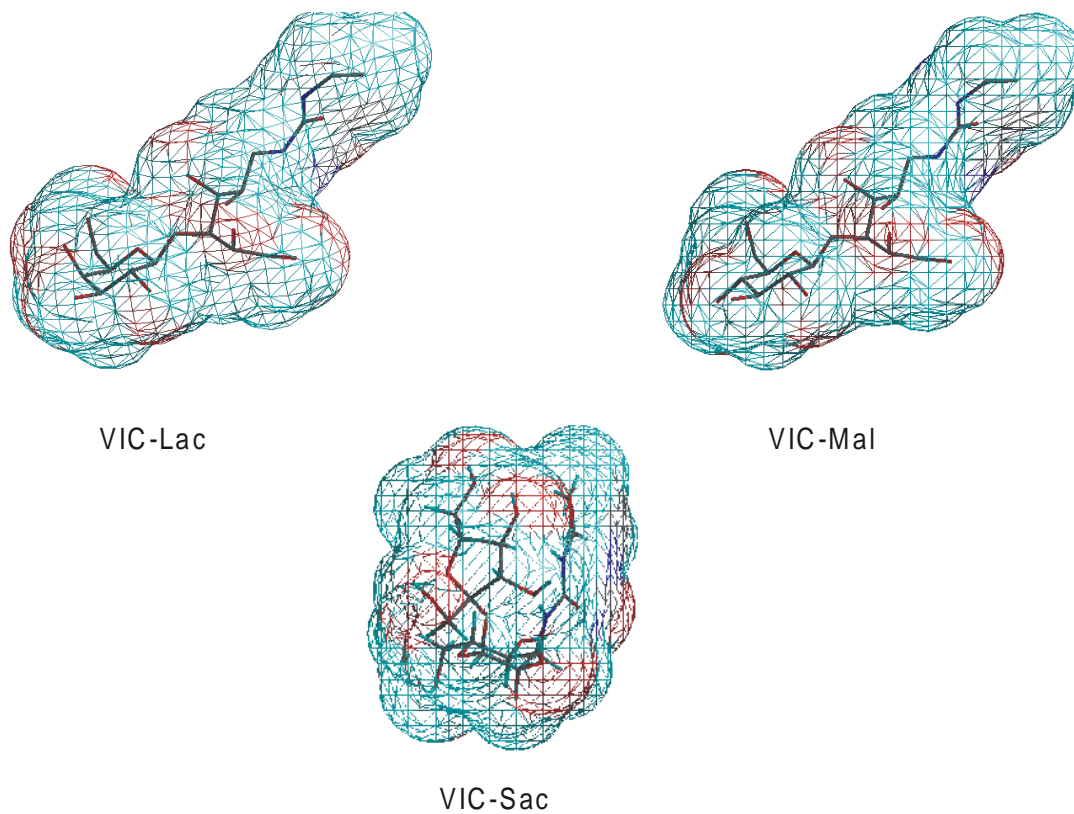


Abbildung 6-21: Berechnete Strukturen und Oberflächen der Harnstoffmonomere



Die erhaltenen Strukturen können mit beiden Erklärungsmodellen (sterisch/energetisch) in Einklang gebracht werden. Die Sperrigkeit im Bereich der Verknüpfung mit der Hauptkette wird in Abbildung 6-21 deutlich, was die innere Steifigkeit erhöht.

Die Berechnung der Oberfläche (hier wurde die Oberfläche, die virtuellen 140pm großen Lösungsmittelmolekülen zugänglich ist, als Referenz gewählt; VIC-Lac:  $1,69\text{nm}^2$ , VIC-Mal:  $1,70\text{nm}^2$ , VIC-Sac:  $1,47\text{nm}^2$ ) zeigt, daß VIC-Sac eine geringere Oberfläche aufweist als die beiden anderen Harnstoffmonomere, die wiederum praktisch gleich große Oberflächen aufweisen, und auch kompakter ist. Das korrespondiert mit dem Erklärungsansatz, der vom Stören der AAm/AAm-Wechselwirkungen ausgeht. Kleinere, d.h. kompaktere Moleküle sollten die starken Amid-Wechselwirkungen weniger stark stören als größere Moleküle. Auch in diesem Fall sollten die VIC-Sac-Copolymere höhere Glastemperaturen aufweisen als ihre VIC-Lac/-Mal Pendants, was auch der Fall ist.

Bei den MVAA-Copolymeren liegt der Fall anders. PMVAA hat mit  $145^\circ\text{C}$  eine erheblich niedrigere Glastemperatur als PAAM, was auf geringere energetische Wechselwirkungen im PMVAA, verglichen mit PAAM, schließen läßt.

Der Einbau der Saccharidmonomere führt jeweils zu einem Anstieg von  $T_g$ , wobei sich VIC-Lac und VIC-Mal wieder praktisch identisch verhalten, VIC-Sac jedoch einen deutlich stärkeren Anstieg der Glastemperatur zur Folge hat.

Die Deutung in Bezug auf die sterischen Faktoren entspricht der Erklärung beim Polyacrylamid. Die Saccharosemonomere bewirken aufgrund des Ringes direkt an der Hauptkette eine erhöhte innere Steifigkeit, verglichen mit den Lactose- und Maltosemonomeren. Bedeutsamer dürften jedoch in diesem Fall die energetischen Wechselwirkungen der Zucker untereinander sein. Hier wechselwirken die zwei Ringe der Saccharose offensichtlich stärker miteinander als die Struktur Kette/Ring von Lactose und Maltose. Dies kann auf den geordneteren Strukturen der Ringe im Vergleich zur Kette beruhen.

Die hohen  $T_g$ -Werte der Einzelproben von AAm/It-Lac und NaAA/VIC-Lac können mit besonders starken Wechselwirkungen aufgrund des ionischen Charakters erklärt werden. Im zweiten Fall ist darüber hinaus der Saccharidanteil mit 12 Massen-(zwei Mol-) Prozent auch sehr gering. Die Glastemperatur von Polynatriumacrylat beträgt ebenfalls  $194^\circ\text{C}$ , wurde also nicht durch den Saccharidanteil verändert. Für weitergehende Deutungen bezüglich des Verhaltens von Polyvinylsacchariden mit ionischen Comonomeren sind jedoch systematische Untersuchungen mit unterschiedlichen Einbauquoten erforderlich.

## 6.7 Ergebnisse der Viskosimetrie

Zur Untersuchung der hydrodynamischen Eigenschaften wurden Viskositätsmessungen wäßriger Lösungen mittels eines Ubbelohde-Kapillarviskosimeters durchgeführt (die zwei ionischen Copolymere wurden in 0,1M Natriumsulfatlösung vermessen). Zur Bestimmung der Staudinger-Indices wurde die Extrapolationsmethode nach Huggins angewendet. In Tabelle 6-7 sind die Grenzviskositäten, sowie Huggins-Koeffizienten und die hydrodynamischen Radien angegeben, letztere wurden aus den via Lichtstreuung erlangten Molmassen berechnet.

Tabelle 6-7: Staudingerindices, Hugginskoeffizienten und hydrodynamische Radien

Polymer	$[\eta]$ [ml/g]	$k_H$	$R_\eta$ [nm]
AAm/Vic-Lac(9)-1	69	0,49	13,0
AAm/Vic-Lac(10)-1	52	0,51	10,0
AAm/Vic-Lac(20)-1	33	0,79	7,9
AAm/Vic-Lac(30)-1	22	0,86	6,5
AAm/Vic-Lac(40)-1	17	1,27	5,4
AAm/Vic-Lac(50)-1	15	1,62	5,2
AAm/Vic-Lac(10)-0.1	195	0,76	30,0
AAm/Vic-Lac(50)-0.1	40	0,36	11,9
AAm/It-Lac(9)-1	118	0,35	22,1
NaAA/Vic-Lac(10)-0.5	42	0,23	8,2
MVAA/Vic-Lac(10)-1	29	0,60	6,1
MVAA/Vic-Lac(30)-1	24	0,60	6,5
MVAA/Vic-Lac(50)-1	-	-	-
AAm/Vic-Mal(10)-1	60	0,45	11,2
AAm/Vic-Mal(30)-1	49	0,81	10,2
AAm/Vic-Mal(50)-1	20	0,31	6,0
MVAA/Vic-Mal(10)-1	35	0,70	7,2
MVAA/Vic-Mal(30)-1	18	1,08	5,1
MVAA/Vic-Mal(50)-1	-	-	-
AAm/Vic-Sac(10)-1	63	0,85	12,8
AAm/Vic-Sac(30)-1	37	0,69	11,3
AAm/Vic-Sac(50)-1	22	0,24	7,8
MVAA/Vic-Sac(10)-1	29	0,84	6,6
MVAA/Vic-Sac(30)-1	11	1,82	3,1
MVAA/Vic-Sac(50)-1	-	-	-
PMVAA-0.01	312	0,46	37,1
PMVAA-0.05	217	0,35	27,6
PMVAA-0.1	140	0,37	18,9
PMVAA-0.5	65	0,39	10,8
PMVAA-1	52	0,42	9,1

Da gleiche Molmassen Voraussetzung zum Vergleich der Hugginskoeffizienten sind, und letztere darüberhinaus recht fehleranfällig sind, wurde auf eine Interpretation verzichtet. Die hydrodynamischen Radien wie auch die Staudingerindices nehmen mit

steigendem Saccharidanteil ab. Da sich jedoch neben dem Einbauverhältnis auch der Polymerisationsgrad ändert, sind weitergehende Schlußfolgerungen hier nicht zulässig.

## 6.8 Ergebnisse der Lichtstreuung

Zur Charakterisierung der Homo- und Copolymere wurden Lichtstreuemessungen in Wasser bei 25°C und 632,8nm durchgeführt. Abgesehen von den beiden ionischen Polymeren, die in 0,1M Natriumsulfatlösung im Batchbetrieb vermessen wurden, wurde in wäßriger Lösung mittels SEC-gekoppelter Lichtstreuung gemessen. In Tabelle 6-8 sind zusätzlich zu den Meßwerten und den berechneten Polymergraden auch die entsprechenden  $dn/dc$ -Werte sowie die Saccharid-Einbauquote wiedergegeben.

Die meisten Polymere weisen relativ kleine Polymergrade auf, und man beobachtet bei den höheren Winkeln keine Winkelabhängigkeit der Streulichtintensität mehr. Die Moleküldimensionen dieser Teilchen sind folglich bezüglich der verwendeten Wellenlänge in der Größenordnung  $< \lambda/20$  (32nm), so daß der Wert der Partikelstreuung ungefähr eins ist. Eine Bestimmung der Gyrationradien ist in diesem Fall durch Lichtstreuung nicht möglich.

Tabelle 6-8: Ergebnisse der statischen Lichtstreuung

Polymer	$[\eta]$ [ml/g]	$M_w$ [g/mol]	$P_w$	$r_{Gyr}$ [nm]	$dn/dc$	Saccharid-Einbau	
						Mol%	Massen%
AAm/Vic-Lac(9)-1	69	201700	2262	47	0,18	5	25
AAm/Vic-Lac(10)-1	52	122900	1416	-	0,18	5	22
AAm/Vic-Lac(20)-1	33	95900	888	-	0,17	11	41
AAm/Vic-Lac(30)-1	22	77400	578	-	0,17	18	57
AAm/Vic-Lac(40)-1	17	59100	371	-	0,17	26	67
AAm/Vic-Lac(50)-1	15	60300	300	-	0,16	38	78
AAm/Vic-Lac(10)-0.1	195	874600	9412	60	0,18	6	28
AAm/Vic-Lac(50)-0.1	40	266700	1324	-	0,16	38	78
AAm/It-Lac(9)-1	118	580000	5675	47	0,16	8	36
NaAA/Vic-Lac(10)-0.5	42	84000	1051	-	0,14	2	12
MVAA/Vic-Lac(10)-1	29	49900	398	-	0,16	8	28
MVAA/Vic-Lac(30)-1	24	71200	336	-	0,16	36	70
MVAA/Vic-Lac(50)-1	-	-	0	-	-	-	0
AAm/Vic-Mal(10)-1	60	146800	1678	44	0,17	5	23
AAm/Vic-Mal(30)-1	49	136500	1126	38	0,17	15	50
AAm/Vic-Mal(50)-1	20	68300	407	-	0,160	28	70
MVAA/Vic-Mal(10)-1	35	67800	569	-	0,16	6	22
MVAA/Vic-Mal(30)-1	18	46500	293	-	0,15	19	49
MVAA/Vic-Mal(50)-1	-	-	0	-	-	45	77
AAm/Vic-Sac(10)-1	63	213000	2329	42	0,17	6	27
AAm/Vic-Sac(30)-1	37	249100	1793	-	0,16	20	59
AAm/Vic-Sac(50)-1	22	139800	793	-	0,16	31	72
MVAA/Vic-Sac(10)-1	29	64100	510	-	0,16	9	28
MVAA/Vic-Sac(30)-1	11	16700	108	-	0,16	18	47
MVAA/Vic-Sac(50)-1	-	-	0	-	-	-	0
PMVAA-0.01	312	1034000	10431	64	0,17	-	-
PMVAA-0.05	217	608800	6141	43	0,17	-	-
PMVAA-0.1	140	305200	3079	-	0,17	-	-
PMVAA-0.5	65	122100	1232	-	0,17	-	-
PMVAA-1	52	90700	915	-	0,17	-	-



In Tabelle 6-9 wird das Verhältnis  $r_{Gyr}/r_{\eta}$ , das auch als Asymmetrie- oder Formfaktor  $p$  bezeichnet wird<sup>158</sup>, wiedergegeben. Die Zahlenwerte können von 0,778 für ideale homogene Kugeln, bis über Zwei, für expandierte Knäuel und gestreckte Ellipsoide liegen. Für ungestörte kuglige aber inhomogene Knäuel wurde ein Wert von 1,37 berechnet<sup>71</sup>. Diese Werte nehmen mit zunehmender Polydispersität ab. Die Werte von  $p$  steigen mit abnehmender Dichte (solide Kugel  $\rightarrow$  hohle Kugel) und steigender Asymmetrie (Kugel  $\rightarrow$  Ellipsoid), wobei eine Zuordnung der jeweiligen Anteile nicht vorgenommen werden kann. Im Falle der in dieser Arbeit untersuchten Polymer gibt es jedoch keinen Anlaß, daß mit einer starken Asymmetrie gerechnet werden müßte. Die Knäuelaufweitung kann daher in guter Näherung als einziger Parameter betrachtet werden.

Alle unten aufgeführten Polymere liegen in Form aufgeweiteter Knäuel vor. Eine Differenzierung nach Saccharid-Typ ist aufgrund von Rundungsfehlern und Meßtoleranzen nicht sinnvoll. Für eine weiterführende Interpretation ist die Faktenbasis zu gering.

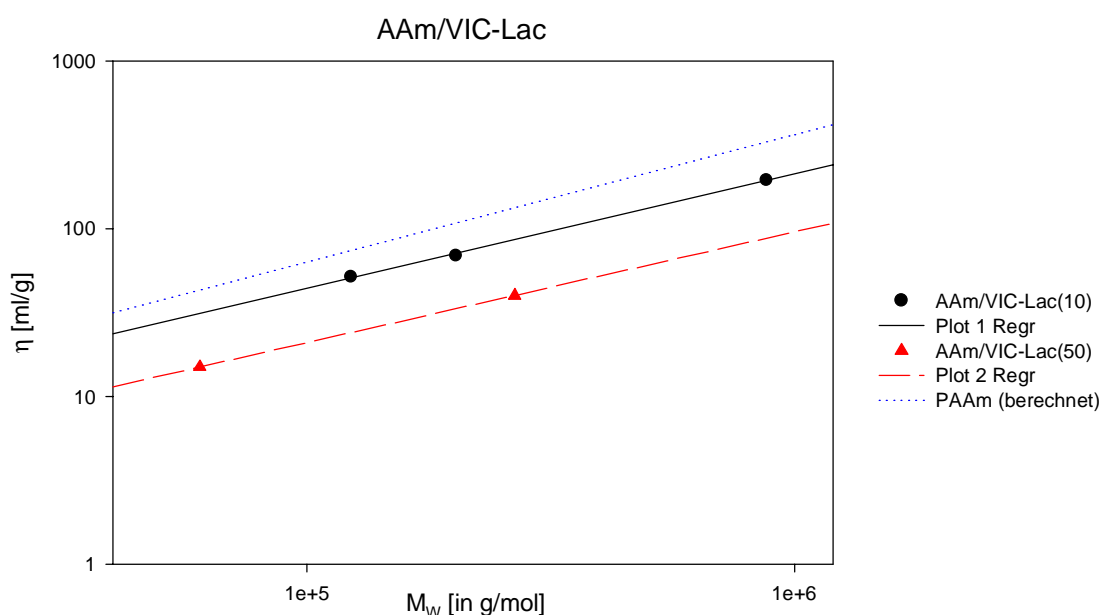
Tabelle 6-9: Formfaktoren und zu Grunde liegende Radien

Polymer	$P_w$	$r_{Gyr}$ [nm]	$r_{\eta}$ [nm]	$r_{Gyr}/r_{\eta}$	Saccharid-Einbau	
					Mol%	Massen%
AAm/Vic-Lac(9)-1	2262	47	13	3,6	5	25
AAm/Vic-Lac(10)-0.1	9412	60	30	2,0	6	28
AAm/It-Lac(9)-1	5675	47	22	2,1	8	36
AAm/Vic-Mal(10)-1	1678	44	11	3,9	5	23
AAm/Vic-Mal(30)-1	1126	38	10	3,7	15	50
AAm/Vic-Sac(10)-1	2329	42	13	3,3	6	27
PMVAA-0.01	10431	64	37	1,7	-	-
PMVAA-0.05	6141	43	28	1,6	-	-

## 6.9 Die KUHN-MARK-HOUWINK-Beziehung

Mit der KUHN-MARK-HOUWINK-Beziehung kann ein Zusammenhang zwischen dem Molekulargewicht  $M_w$  und dem Staudinger-Index  $[\eta]$  hergestellt werden. Voraussetzung ist das Vorliegen monodisperser, linearer, unverzweigter Polymere. Bei Copolymeren wird das Unterfangen dadurch verkompliziert, daß nur Polymere gleicher Zusammensetzung in Beziehung gesetzt werden können. Aus dem Pool der synthetisierten Copolymere wurden daher zum einen AAm/VIC-Lac(9)-1, AAm/VIC-Lac(10)-1 und AAm/VIC-Lac(10)-0.1 zum anderen AAm/VIC-Lac(50)-1 und AAm/VIC-Lac(50)-0.1 ausgewählt. Die entsprechende Auftragung (s. Abbildung 6-22) liefert die  $[\eta]$ - $M_w$ -Beziehungen für die beiden Copolymer-Lösungsmittelsysteme bei 25°C. Zum Vergleich wurde die auf berechneten Werten<sup>161</sup> basierende Gerade von Polyacrylamid mit eingefügt.

Abbildung 6-22: KUHN-MARK-HOUWINK-Beziehung für zwei AAm/VIC-Lac-Copolymere



Mit Hilfe dieser Abbildung lassen sich die  $a$  und  $K_{[\eta]}$ -Werte der  $[\eta]$ - $M$ -Beziehung  $[\eta] = K_{[\eta]} * M^a$  bestimmen, die in Tabelle 6-10 angegeben sind.

Die  $\eta$ - $M_w$ -Beziehungen sind auf Basis polydisperser Proben bestimmt worden. Diesem Umstand wurde durch den Korrekturfaktor  $q$  Rechnung getragen<sup>159</sup>, die Tabellen zeigen die bereits korrigierten Werte für monodisperse Proben. Der Berechnung von  $q$  liegen ein  $M_w/M_n$ -Verhältnis von 2,5 und die Annahme einer Schulz-Zimm-Verteilung zu Grunde,  $q$  hat in diesem Fall den Wert 0,95 für PMVAA und 0,94 für die AAm/VIC-Lac-Copolymere<sup>160</sup>.

Tabelle 6-10: KUHN-MARK-HOUWINK-Beziehung der betrachteten Copolymer-Lösungsmittel-Systeme bei 25°C in Wasser (zum Vergleich PAAm, berechnet<sup>161</sup>)

Polymertyp	$[\eta]$ - $M_w$ -Beziehung
PAAm	$[\eta]=1,0 \cdot 10^{-2} \cdot M_w^{0,76}$
AAm/VIC-Lac(10)	$[\eta]=1,6 \cdot 10^{-2} \cdot M_w^{0,68}$
AAm/VIC-Lac(50)	$[\eta]=9,9 \cdot 10^{-3} \cdot M_w^{0,66}$

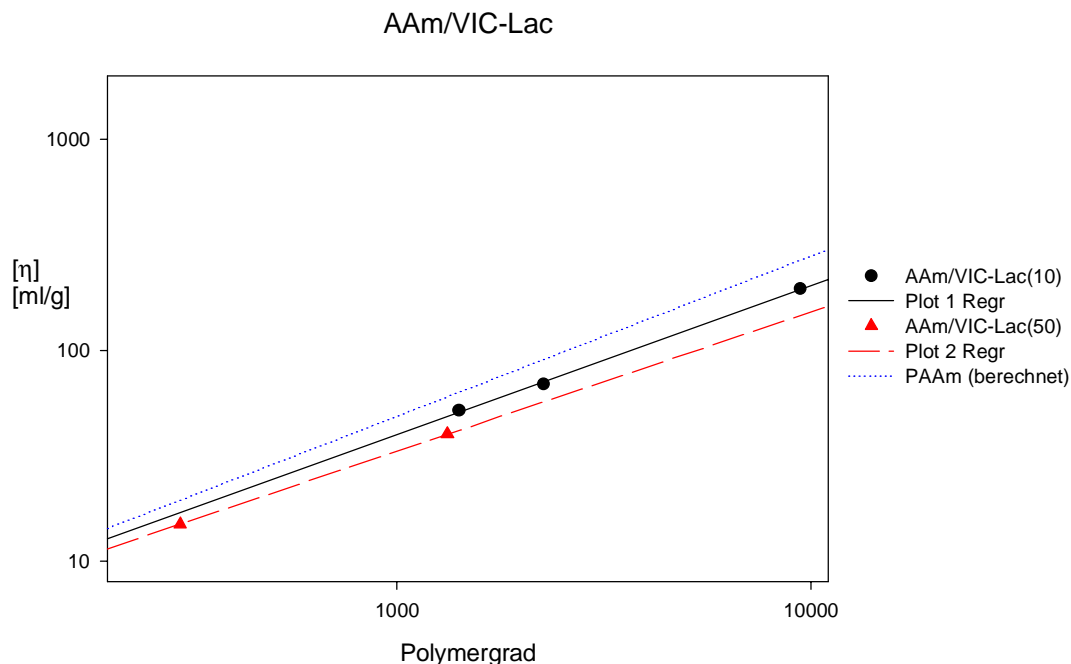
$K_\eta$  wird durch die geometrische Größe der Makromoleküle beeinflusst und der Exponent  $a$  läßt Rückschlüsse auf die Lösungsstruktur der Polymere zu. Die möglichen Grenzfälle sind in Tabelle 6-11 aufgeführt.

Tabelle 6-11: Zusammenhang zwischen dem Mark-Houwink-Exponenten  $a$  und der Gestalt der Polymermoleküle<sup>72</sup>

Lösungsstruktur der Polymermoleküle	$a$
starre Kugeln	0
undurchspülte Knäuel (Theta Zustand)	0,5
teilweise durchspülte Knäuel	0,5 bis 1,0
voll durchspülte Knäuel	>1
starre Stäbchen	2

Die Mark-Houwink-Exponenten zeigen, daß alle drei Polymere unter den gegebenen Bedingungen als teilweise durchspülte Knäuel vorliegen. Dabei ist das PAAm-Homopolymer am stärksten aufgeweitet. Für beide Copolymere ist Wasser offensichtlich ein nicht ganz so gutes Lösungsmittel wie für PAAm. Ein höherer Einbau führt hier dazu, daß eine Aufweitung in geringerem Maße stattfindet.

Zur Betrachtung des Viskositätsverhaltens ist eine Auftragung gegen den Polymerisationsgrad sinnvoll, um die unterschiedlichen Molmassen der Monomere zu kompensieren. In Abbildung 6-23 ist die Viskosität doppeltlogarithmisch über dem Polymergrad aufgetragen. Die daraus gewonnenen  $\eta$ - $P_w$ -Beziehungen sind in Tabelle 6-12 aufgeführt.

Abbildung 6-23:  $\eta$ - $P_w$ -Beziehung für zwei AAm/VIC-Lac-Copolymere (PAAm berechnet)Tabelle 6-12:  $\eta$ - $P_w$ -Beziehung von VIC-Lac(10) und VIC-Lac(50) bei 25°C in Wasser (PAAm berechnet)

Polymertyp	$[\eta]$ - $P_w$ -Beziehung
PAAm	$[\eta] = 2,6 \cdot 10^{-1} \cdot P_w^{0,76}$
AAm/VIC-Lac(10)	$[\eta] = 2,9 \cdot 10^{-1} \cdot P_w^{0,71}$
AAm/VIC-Lac(50)	$[\eta] = 3,3 \cdot 10^{-1} \cdot P_w^{0,66}$

Die  $\eta$ - $P_w$ -Beziehungen zeigen ein ähnliches Bild wie die  $\eta$ - $M_w$ -Beziehungen. Auch hier liegen die Geraden der Copolymere unter der von Polyacrylamid, d.h. auch bei gleichen Polymergraden sind die viskositätserhöhenden Eigenschaften beim Polyacrylamid stärker ausgeprägt als bei den AAm/VIC-Lac-Copolymeren.

Das entspricht früheren Ergebnissen aus dem Arbeitskreis Klein<sup>26,28</sup> – ist also eine Bestätigung der Tendenz der Polyvinylsaccharide.

Zu Vergleichszwecken wird für Polymethylvinylacetamid ebenfalls eine  $[\eta]$ - $M$ -Beziehungen aufgestellt (Abbildung 6-24). Die relevanten Daten sind in Tabelle 6-13 zusammengefaßt. In Tabelle 6-14 sind die entsprechenden Werte für Polyacrylamid aufgeführt, gemäß der  $[\eta]$ - $M$ -Beziehung von Kulicke, Kniewske und Klein<sup>161</sup>.

Tabelle 6-13: Charakterisierungsparameter für Polymethylvinylacetamid-Polymere

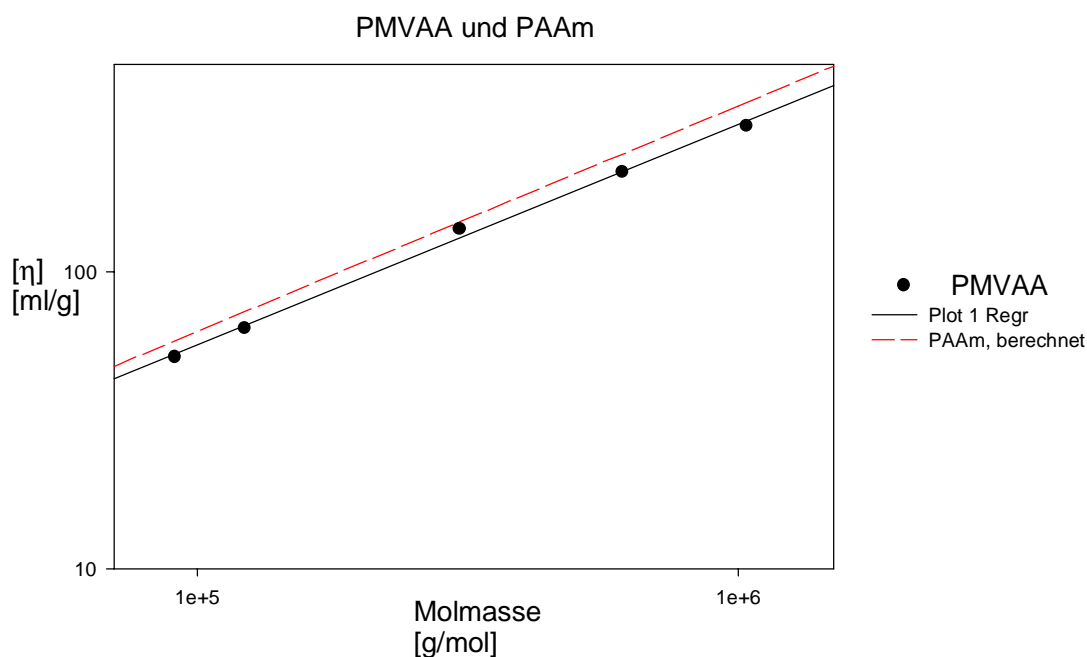
Polymer	$P_w$	$[\eta]$ [ml/g]	$M_w$ [g/mol]	$R_\eta$ [nm]
PMVAA-0.01	10431	312	1034000	37,1
PMVAA-0.05	6141	217	608800	27,6
PMVAA-0.1	3079	140	305200	18,9
PMVAA-0.5	1232	65	122100	10,8
PMVAA-1	915	52	90700	9,1

Tabelle 6-14: Polyacrylamid bei gleichem Polymergrad (berechnet)

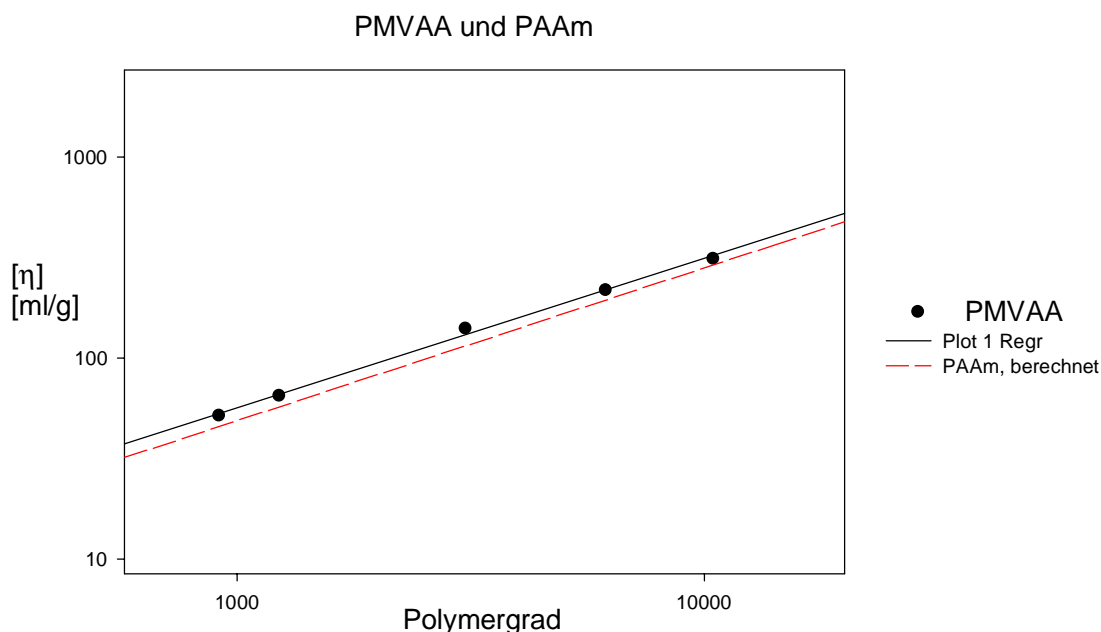
P <sub>w</sub>	[ $\eta$ ] [ml/g]	M <sub>w</sub> [g/mol]	R <sub><math>\eta</math></sub> [nm]
10431	289	741418	32,4
6141	193	436533	23,7
3079	114	218840	15,8
1232	57	87550	9,3
915	45	65035	7,8

Tabelle 6-15: KUHN-MARK-HOUWINK-Beziehung von PMVAA und PAAm bei 25°C in Wasser

Polymertyp	$\eta$ -M <sub>w</sub> -Beziehung
PMVAA	$[\eta]=1,1 \cdot 10^{-2} \cdot M_w^{0,74}$
PAAm	$[\eta]=1,0 \cdot 10^{-2} \cdot M_w^{0,76}$

Abbildung 6-24:  $\eta$ -M<sub>w</sub>-Beziehung für Polymethylvinylacetamid mit PAAm zum Vergleich

Um den Einfluß der Kettenlänge auf das Viskositätsverhalten der Polymere zu diskutieren, bietet es sich an, den Staudinger-Index auf den Polymerisationsgrad zu beziehen. Dies berücksichtigt die unterschiedlichen Molmassen der beiden Monomere. In Abbildung 6-25 werden die Staudinger-Indices von PMVAA und PAAm doppelt-logarithmisch gegen den Polymerisationsgrad aufgetragen. Die entsprechenden  $[\eta]$ -P<sub>w</sub>-Beziehungen finden sich in Tabelle 6-16.

Abbildung 6-25:  $\eta$ - $P_w$ -Beziehung für Polymethylvinylacetamid mit PAAm zum VergleichTabelle 6-16:  $\eta$ - $P_w$ -Beziehung von PMVAA und PAAm<sup>161</sup> bei 25°C in Wasser

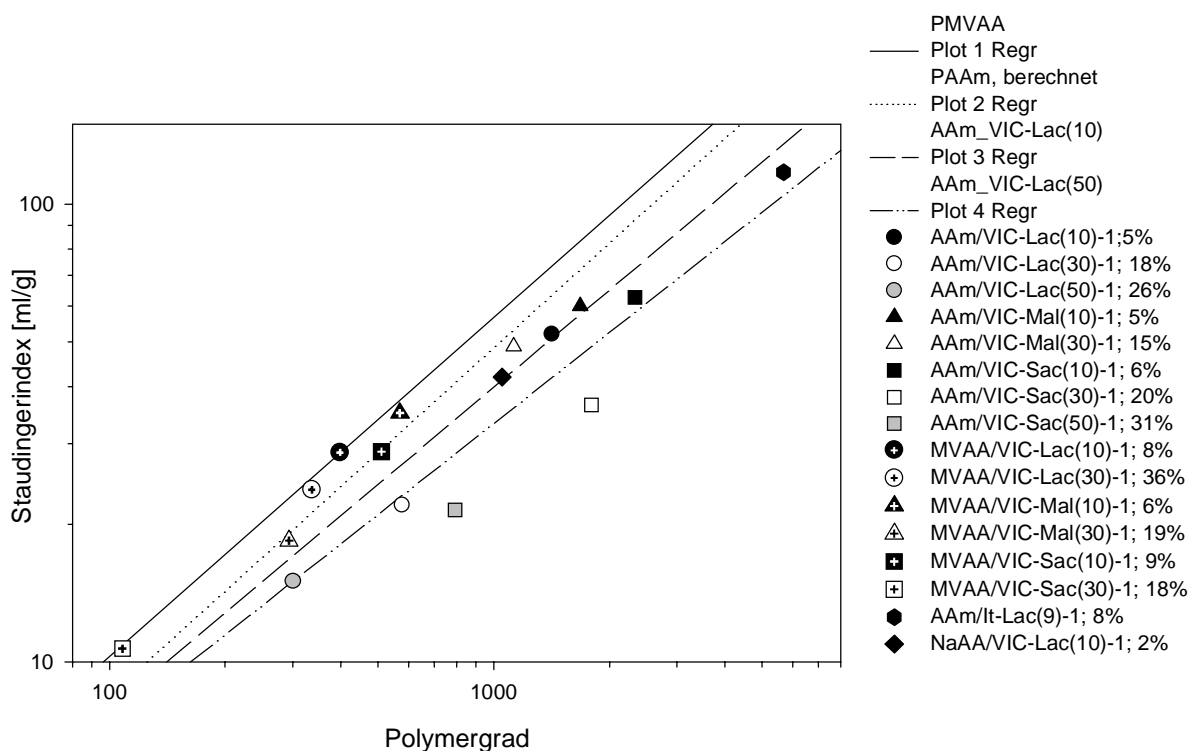
Polymertyp	$[\eta]$ - $P_w$ -Beziehung
PMVAA	$[\eta] = 3,1 \cdot 10^{-1} \cdot P_w^{0,74}$
PAAm	$[\eta] = 2,6 \cdot 10^{-1} \cdot P_w^{0,76}$

Diese Daten deuten darauf hin, daß PMVAA verglichen mit PAAm etwas viskoser ist, so man dies auf den Polymergrad bezieht. Der Unterschied ist allerdings sehr gering. Daher kann allenfalls gesagt werden, daß PMVAA im Bezug auf das Viskositätsverhalten im wesentlichen mit Polyacrylamid vergleichbar ist.

In Abbildung 6-26 sind die in dieser Arbeit synthetisierten Vinylsaccharid-Copolymere im  $\eta$ - $P_w$ -Diagramm eingetragen. Die Geraden entsprechen den Werten für PMVAA, PAAm, AAm/VIC-Lac(10) und AAm/VIC-Lac(50). Abgesehen von den AAm/VIC-Sac-Copolymeren befinden sich alle Produkte im von PAAm und AAm/VIC-Lac(50) begrenzten Bereich. Die AAm/VIC-Sac Copolymere scheinen geringfügig weniger viskos zu sein, als ihre Lactose bzw. Maltose basierten Pendants. Es ist jedoch ebenfalls festzustellen, daß eine höhere Saccharideinbauquote mit einem kleineren Wert für den Staudingerindex einhergeht. Unter den Acrylamidcopolymeren weisen die saccharosebasierten Substanzen die höchsten Zuckereinbauquoten auf. Aufgrund dieser Überlagerung kann höchstens von einer geringen Tendenz gesprochen werden, die darauf

hindeutet, daß der Einbau von Saccharoseeinheiten die Viskosität stärker absenkt als Maltose und Lactose. Außerdem scheinen die MVAA-Copolymere eine etwas höhere Viskosität aufzuweisen als die entsprechenden AAm-Copolymere. Dies wäre jedoch noch anhand höhermolekularer Proben zu überprüfen.

Abbildung 6-26: Übersicht der  $\eta$ - $P_w$ -Beziehungen



## 6.10 Resümee der physikochemischen Charakterisierung

Die in Kapitel 6 behandelten Vinylsaccharid-Copolymere weisen bezüglich der Reaktionskinetik keine Besonderheiten auf. Unter den gewählten Bedingungen entstehen statistische Verteilungen der Monomere im Polymer. Die verwendeten Comonomere sind reaktiver als die Saccharid-Monomere. Dies führt zu einer starken Anreicherung jener Substanzen in der Kette, d.h. die Saccharideinheiten liegen – je nach Monomermischung – mehr oder weniger stark verdünnt vor, weshalb Saccharid-Saccharid-Wechselwirkungen aufgrund der Primärstruktur hier nicht zu erwarten sind. Dies korrespondiert mit den Beobachtungen von Koblitz, der Acrylamid mit Methacrylamido-(1,6') isomaltit copolymerisiert hat. In diesem Fall verhielt sich die polymerisierbare Methacrylamido-Gruppe ähnlich wie die Vinylharnstoffgruppe<sup>28</sup>. Wiegand<sup>29</sup> hingegen beobachtete bei der Copolymerisation von Acrylamid mit Methacrylamidoglucitol einen bevorzugten Einbau der Saccharidmonomere. Diese Ergebnisse stärken die Vermutung Kowalczyks<sup>25</sup>, daß sterische Ursachen das Polymerisationsverhalten beeinflussen. Schließlich handelt es sich sowohl bei den hier untersuchten Monomeren wie auch bei Koblitz um Disaccharide, bei Wiegand jedoch lediglich um ein Monosaccharid, welches sterisch weniger anspruchsvoll ist, womit die Unterschiede im Copolymerisationsverhalten erklärt werden können.

Bei den Untersuchungen der Glasübergangstemperaturen sind vor allem die Unterschiede im Verhalten der Saccharose-Monomere im Vergleich zu den Lactose- bzw. Maltosependants hervorzuheben. Bei den Acrylamid-Copolymeren senken Anteile der Saccharidmonomere jeweils die Glastemperatur, jedoch in unterschiedlichem Maße. Während der Einfluß von Maltose- und Lactoseeinheiten praktisch äquivalent ist, führt der Einbau von Saccharoseeinheiten zu einer geringeren Absenkung der Glastemperatur.

PMVAA weist eine niedrigere Glastemperatur auf als PAAm. Der Einbau aller Saccharidmonomere erhöht die Glastemperatur des entstehenden Copolymers im Vergleich zum PMVAA-Homopolymer. Während der Einfluß von Lactose- und Maltoseeinheiten jedoch wieder äquivalent ist, führt der Einbau von Saccharoseeinheiten zu einem deutlich höheren Anstieg von  $T_g$ .

Bei der Erklärung sind sowohl sterische wie auch energetische Faktoren zu berücksichtigen. Für die Höhe der Glastemperatur ist die Beweglichkeit der Kette bestimmend. Diese ist eine Funktion der inneren Steifigkeit, wobei die Haftung benachbarter Kettenstücke zu berücksichtigen ist. Die hohe Glastemperatur von PAAm kann auf starke Wechselwirkungen zwischen den Amidfunktionen zurückgeführt werden. Werden sie gestört, sinkt  $T_g$ . Obwohl alle verwendeten Comonomere diese Wechselwirkungen stören, wird dies bei kompakteren Molekülen in geringerem Maße geschehen.

Eine Visualisierung der berechneten Strukturen von VIC-Lac, VIC-Mal und VIC-Sac (vgl. Abbildung 6-21) zeigt, daß es sich bei VIC-Sac um das kompaktere Molekül



handelt. Ein geringeres Absenken der Glasstemperatur bei VIC-Sac-Anteilen kann sowohl hierauf zurückzuführen sein wie auch auf eventuelle stärkere Wechselwirkungen mit den Amidgruppen des Comonomers. Die Wechselwirkungen beim PMVAA sind offensichtlich nicht so stark wie beim PAAM, daher resultiert die niedrigere Glasstemperatur. Saccharid-Anteile führen offensichtlich zu stärkeren Wechselwirkungen und damit höheren Werten für  $T_g$  als beim Homopolymer. Wieder verhalten sich Lactose und Maltose analog. Saccharose jedoch hat auch hier einen stärkeren Einfluß, die Glasstemperatur wird durch saccharosebasierende Monomere stärker angehoben. Die größere Sperrigkeit im Bereich der Anknüpfung an die Polymerkette kann auch hier als mögliche Erklärung herangezogen werden. Ob dies oder eventuell stärkere Nebenvale nzwechselwirkungen der Hydroxylgruppen den dominierenden Einfluß darstellen, kann hier allerdings nicht geklärt werden. Die Untersuchungen fördern jedoch die Annahme, daß aufgrund ihrer zwei Ringstrukturen nahe dem Kettenanknüpfungspunkt die Saccharosemonomere dort sterisch anspruchsvoller, letztlich aber auch kompakter sind als ihre Lactose- und Maltosependants.

Bei der Untersuchung der Lösungsstruktur der synthetisierten Polymere konnte festgestellt werden, daß Polymethylvinylacetamid und Polyacrylamid in Wasser ein vergleichbares Verhalten bezüglich ihres Einflusses auf den Staudingerindex zeigen. Dies demonstrieren die  $\eta$ - $P_w$ - und  $\eta$ - $M_w$ -Beziehungen. Beide Substanzen wirken stark viskositätserhöhend. Je höher der Anteil an eingebauten Saccharidmonomeren, desto geringer war der Staudingerindex bei gleichem Polymergrad.

Diese Ergebnisse korrespondieren mit früher gemachten Beobachtungen. Offensichtlich finden, durch die Kettenfaltung der Polymere in Lösung ermöglicht, teilweise intramolekulare Wechselwirkungen zwischen den Hydroxylgruppen der Saccharide statt, die dann nicht mehr so gut solvatisiert werden können<sup>21</sup>. Diese hydrophoben Effekte wurden von Koblitz<sup>28</sup> mittels Fluoreszenzspektroskopie näher untersucht. Die Saccharide wirken also trotz größeren Raumbedarfs für diese Systeme nicht viskositätserhöhend.

Was den unterschiedlichen Einfluß der verschiedenen Zuckereinheiten angeht, so läßt sich sagen, daß es keinen großen Effekt auf das Viskositätsverhalten gibt. Maltose und Lactose-Copolymere verhalten sich praktisch äquivalent. Lediglich bei den saccharosebasierenden Polymeren ist eine Unterscheidung möglich. Die Ergebnisse deuten an, daß der Einbau von Saccharoseeinheiten die Viskosität stärker absenkt als der von Maltose und Lactose. Der Einfluß unterschiedlicher Zucker auf das Lösungsverhalten wurde bereits von Haji Begli<sup>21</sup> beim Vergleich von Cellobitol mit Maltitol als Vergleich der Verknüpfung der Glucoseeinheiten erwähnt.

Die Berechnung der Oberfläche ergab für VIC-Lac:  $1,69 \text{ nm}^2$ , für VIC-Mal  $1,70 \text{ nm}^2$  und für VIC-Sac  $1,47 \text{ nm}^2$ , auch hier kann ein Zusammenhang vermutet werden. Dennoch sind die Unterschiede hier so gering, daß sie nicht überinterpretiert werden sollten.

Zu den in früheren Arbeiten gemachten Beobachtungen, daß bei gleichem hydrodynamischen Radius Vinylsaccharid-Copolymere höhere Gyrationsradien aufweisen als die

korrespondierenden Homopolymeren, kann an dieser Stelle nichts gesagt werden. Für eine fundierte Aussage hierzu liegen nicht genügend Werte höhermolekularer Copolymere vor, die Grundlage für eine verlässliche Charakterisierung bieten. Die untersuchten Polymere liegen, reflektiert durch den Mark-Houwink-Exponenten, allesamt als partiell durchspülte Knäuel vor.

## 6.11 Biologische Abbaubarkeit

Ausgewählte Polymerproben wurden einem Abbau-Test nach Zahn-Wellens unterzogen. Bei den Proben wurden CSB-Messungen mit einem Dr. Lange Photometer durchgeführt (Tabelle 6-17) und daraus der Abbau gemäß Gleichung 5-14 errechnet (Tabelle 6-18):

Tabelle 6-17: CSB-Messungen (in mg Sauerstoff pro Liter Ansatz)

Inkubationszeit (in h):	3	24	168	504	672	1008
AAm/Vic-Lac(10)-1	836	813	847	809	796	779
AAm/Vic-Lac(50)-1	743	729	649	535	505	482
MVAA/Vic-Lac(10)-1	657	679	690	661	675	643
AAm/Vic-Mal(10)-1	864	848	797	802	791	780
AAm/Vic-Sac(10)-1	722	737	754	680	691	660
PAAm-Sb4	787	776	774	786	788	763
PMVAA-0.1	838	849	857	854	862	842

Tabelle 6-18: Abbau (in %) berechnet aus den CSB-Messungen

Inkubationszeit (in h):	24	168	504	672	1008
AAm/Vic-Lac(10)-1	3	-1	3	5	7
AAm/Vic-Lac(50)-1	2	13	28	32	35
MVAA/Vic-Lac(10)-1	-3	-5	-1	-3	2
AAm/Vic-Mal(10)-1	2	8	7	8	10
AAm/Vic-Sac(10)-1	-2	-4	6	4	9
PAAm-Sb4	1	2	0	0	3
PMVAA-0.1	-1	-2	-2	-3	-1

Es wurden fünf Copolymere ausgewählt. Die Vinylsaccharid-Komponente umfaßt sowohl Lactose- als auch Maltose- und Saccharose-basierende Einheiten. Das Nicht-kohlenhydratmonomer ist Acrylamid und in einem Fall Methylvinylacetamid. Zum Vergleich werden auch jeweils ein Polyacrylamid sowie ein Polyvinylacetamid-Homopolymer untersucht. Die ersten beiden auf Lactose basierenden Copolymere unterscheiden sich durch ihren Vinylsaccharid-Anteil, das erste und dritte hingegen durch das verwendete Comonomer. Zum Vergleich der verschiedenen Saccharid-Einheiten untereinander wurden Acrylamid-Copolymere mit jeweils relativ geringen Einbauquoten des Lactose-, Maltose-, sowie Saccharoseharnstoffs untersucht.

Die hier relevanten Parameter der getesteten Polymere sind in Tabelle 6-19 aufgelistet.

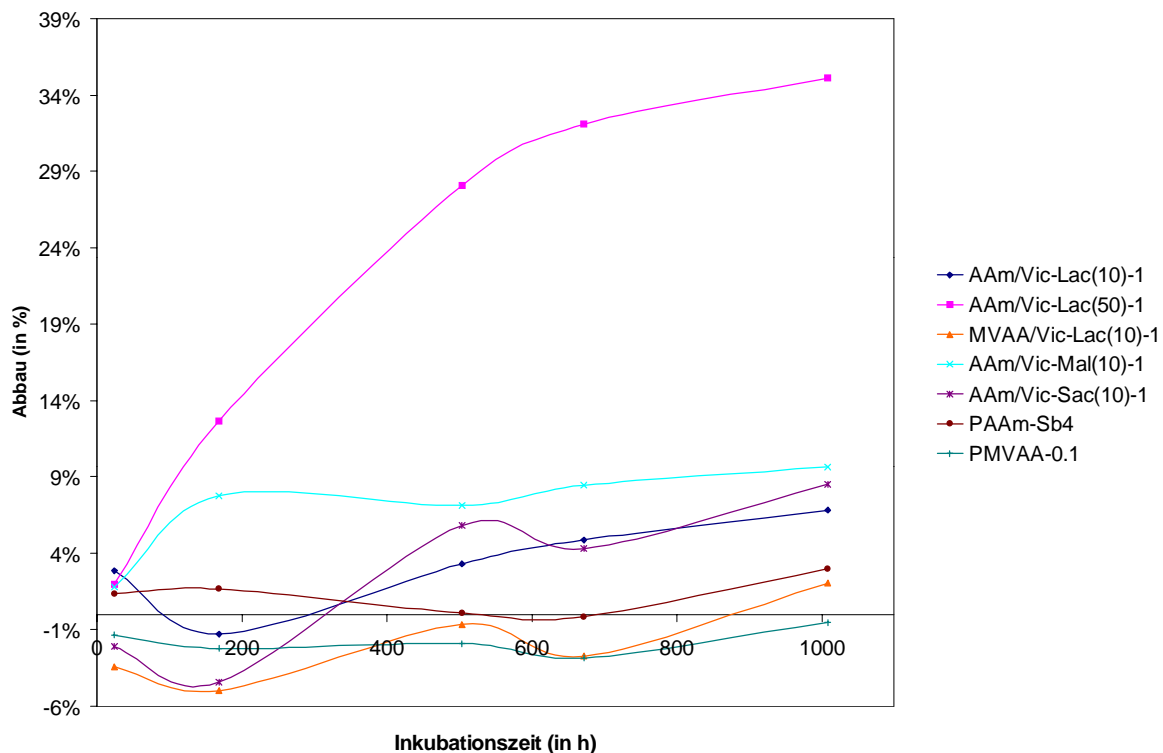
Tabelle 6-19: Charakteristika der dem Abbautest unterzogenen Polymere

	$M_w$ [g/mol]	P-Grad	$[\eta]$ [ml/g]	Zuckereinbau	
				Mol%	Massen%
1) AAm/Vic-Lac(10)-1	127300	1467	52	5	22
2) AAm/Vic-Lac(50)-1(2)	88000	353	20	52	86
3) MVAA/Vic-Lac(10)-1	45000	359	29	8	28
4) AAm/Vic-Mal(10)-1	165500	1892	60	5	23
5) AAm/Vic-Sac(10)-1	233000	2548	63	6	27
6) PAAm-SB4	370000	5205	159	-	-
7) PMVAA-0.1	318400	3212	140	-	-

Alle Vinylsaccharid-Copolymere enthalten einen relativ geringen Saccharidanteil von 5-8 Mol%, ausgenommen Polymer 2, das mit 52 Mol% mengenmäßig zu mehr als der Hälfte, massenmäßig sogar zu mehr als 4/5tel aus Saccharideinheit besteht. Zwar variiert der Polymergrad mit Werten zwischen 350 und 5200 relativ stark, dennoch sind alle sieben Polymere zu groß, um einem intrazellulären Abbau zu unterliegen.

Die aus den CSB-Messungen erhaltenen Abbaukurven erstrecken sich über einen Zeitraum von sechs Wochen, nachdem die Abbaurrate merklich zurückgeht:

Abbildung 6-27: Abbau gemäß CSB-Messungen



Es läßt sich klar erkennen, daß mit AAm/Vic-Lac(50)-1 das Polymer mit dem höchsten Anteil an Saccharid-Komponente auch den mit Abstand höchsten Abbaugrad aufweist. Nach sechs Wochen ist es zu mehr als 30% abgebaut. Bei den übrigen Polymeren, ausgenommen AAm/Vic-Mal(10)-1, schwanken die Abbauwerte über der Zeit relativ deutlich; sie steigen zwar an, jedoch nicht kontinuierlich. Daraus läßt sich vermuten, daß entweder der Zahn-Wellens-Test oder aber die Analytik mittels CSB-Bestimmung bei relativ geringen Abbauwerten nicht optimal ist. Zur Überprüfung der analytischen Messungen wurden die jeweiligen Endwerte mittels TOC-Messungen überprüft. Hierbei wird nicht, wie mit dem chemischen Sauerstoff-Bedarf, ein indirekter Indikator für den Abbau genommen, sondern der gelöste Kohlenstoff wird direkt bestimmt.

Tabelle 6-20: Ergebnisse der TOC-Messungen (in mg Kohlenstoff pro Liter Ansatz)

Inkubationszeit (in h):	3	1008	Abbau%
AAm/Vic-Lac(10)-1	303	283	7
AAm/Vic-Lac(50)-1	271	184	32
MVAA/Vic-Lac(10)-1	218	191	12
AAm/Vic-Mal(10)-1	309	273	12
AAm/Vic-Sac(10)-1	265	240	10
PAAm-Sb4	288	277	4
PMVAA-0.1	250	237	5

Von Polymer Nr. 3 (MVAA/Vic-Lac(10)-1) abgesehen, zeigt sich eine sehr gute Übereinstimmung der mit den unterschiedlichen Methoden ermittelten Meßwerte (Tabelle 6-18 und Tabelle 6-20). Die Schwankungen der Meßwerte sind demnach nicht auf die Analytik zurück zu führen. Eine Ursache kann die Adsorption der Polymere an Gefäß und Belebtschlamm sein. Zwar wird versucht, die Adsorptionseffekte zu kompensieren, indem erst nach drei Stunden die Probe für die erste Messung gezogen wird, allerdings kann sich der Grad der Adsorption durch einen Abbau durchaus verändern. Unter Berücksichtigung einer mit Abbau einhergehenden Desorption, werden „negative“ Abbauwerte, besonders zu Beginn der Messung, verständlich. Solche Effekte wirken sich naturgemäß besonders stark bei insgesamt geringem Abbau aus.

Bei der Bewertung des Abbaugrades muß ebenfalls berücksichtigt werden, daß bei diesem Test nur der vollständige biologische Abbau detektiert wird, d.h. daß eventuell vorhandene Kettenbruchstücke nicht dem Abbau zugerechnet werden. Da es in dieser Arbeit nicht um eine vollständige Analyse von Abbaueigenschaften geht, wurde darauf verzichtet, zusätzliche Untersuchungen bezüglich der Natur gegebenenfalls unvollständig abgebauter Kettensegmente zu machen. Dennoch läßt sich spekulieren, woher das Kohlendioxid des vollständigen Abbaus herrühren mag.

Es wurde Klärschlamm aus einer kommunalen Kläranlage verwendet, d.h. die Bakterien waren nicht adaptiert an dies spezielle Substrat. Es ist daher am wahrscheinlichsten, daß solche Bausteine am schnellsten verstoffwechselt werden, die den im Abwasser vorkommenden Bakterien schon einmal als Substrat gedient haben, bzw. die Gruppen desselben Typs enthalten. Die Saccharid-Einheiten kommen hierfür offensichtlich am

ehosten in Frage. Es wurde also analysiert, ob ausgehend vom Abbau der kompletten Saccharid-Seitenkette oder aber vom Abbau des endständigen Saccharid-Ringes Übereinstimmungen in der Kohlenstoff-Bilanz zu finden sind. Da bei den Abbaumessungen sowohl über CSB als auch über TOC-Messungen nur die Verhältnisse der Kohlenstoffatome Berücksichtigung finden, läßt sich folgende Tabelle aufstellen:

Tabelle 6-21: Korrelation zwischen theoretischem und tatsächlichem Abbau

	Z (in%)	C <sub>100</sub>	C <sub>100,S</sub>	A <sub>th,S</sub> (in%)	C <sub>100,E</sub>	A <sub>th,E</sub> (in%)	CSB	TOC	Ø
1) AAm/Vic-Lac(10)-1	5	355	295	17	328	8	7	7	7
2) AAm/Vic-Lac(50)-1(2)	52	926	248	73	613	34	35	32	34
3) MVAA/Vic-Lac(10)-1	8	584	475	19	534	9	2	12	7
4) AAm/Vic-Mal(10)-1	5	358	295	17	329	8	10	12	11
5) AAm/Vic-Sac(10)-1	6	372	294	21	336	10	9	10	10

Z (in Mol%): Anteil des Zuckermonomeren im Copolymer

C<sub>100</sub>: Durchschnittliche Zahl der Kohlenstoffatome in einer Polymerkette mit P=100

C<sub>100,S</sub>: Durchschnittliche Zahl von Kohlenstoffatomen in den Kohlenhydrat-Seitenketten einer Polymerkette mit P=100

A<sub>th,S</sub>: Theoretischer Abbau, wenn die komplette Kohlenhydrat-Seitenkette abgebaut würde

C<sub>100,E</sub>: Durchschnittliche Zahl von Kohlenstoffatomen im „äußeren“, ringförmigen Kohlenhydrat bei einer Polymerkette mit P=100

A<sub>th,E</sub>: Theoretischer Abbau, wenn der „äußere“ Kohlenhydratring abgebaut würde

n<sub>C,Z</sub>: Kohlenstoffatome des Zuckermonomeren

n<sub>C,M</sub>: Kohlenstoffatome des Comonomeren

n<sub>C,R</sub>: (angenommene) Zahl nicht abgebauter Kohlenstoffatome des Zuckermonomeren (für C<sub>100,S</sub>=2 und für C<sub>100,E</sub>= 9)

$$C_{100}=Z \cdot n_{C,Z} + (100-Z) \cdot n_{C,M}$$

$$C_{100,S}=Z \cdot n_{C,R} + (100-Z) \cdot n_{C,M}$$

$$A_{th,S}=(C_{100}-C_{100,S})/C_{100}$$

$$C_{100,E}=Z \cdot n_{C,E} + (100-Z) \cdot n_{C,M}$$

$$A_{th,E}=(C_{100}-C_{100,E})/C_{100}$$

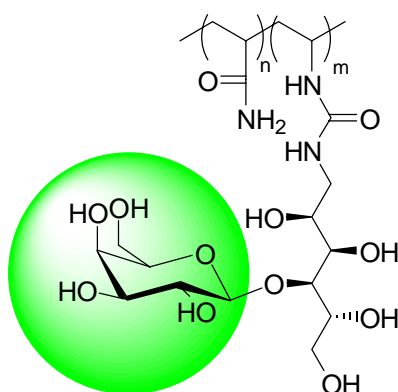
CSB= Abbau (in Mol%) laut CSB-Messung nach 6 Wochen

TOC= Abbau (in Mol%) laut TOC-Messung nach 6 Wochen

$$\varnothing=(CSB+TOC)/2$$

Ein Vergleich der theoretischen Abbauwerte der kompletten Seitenkette ( $A_{th,S}$ ) mit den aus CSB bzw. TOC-Messungen berechneten Werten zeigt, daß die gemessenen Werte für einen Abbau der kompletten Saccharid-Seitenkette zu niedrig sind. Werden die theoretischen Abbauwerte des endständigen Saccharid-Rings ( $A_{th,E}$ ) mit den tatsächlichen Meßwerten verglichen, so zeigt sich jedoch eine auffallend gute Übereinstimmung. Dieses legt, bei aller Vorsicht, den Schluß nah, daß der detektierte, vollständig mineralisierte Anteil des Polymeren dem in Abbildung 6-28 gekennzeichneten Bereich entstammen könnte. Sicherlich hört der Abbau nicht an dieser Stelle auf, wie man an der weiterhin leicht steigenden Abbaukurve sehen kann. Dennoch ist der weitere Fortgang langsamer, als das Werk der Glycosidasen.

Abbildung 6-28: Vermutlich vollständig mineralisierter Teil von AAm/Vic-Lac(50)-1



Eine weitere Hypothese betrifft den Einfluß sterischer Aspekte. In einer früheren Arbeit, in der das Abbauverhalten zweier Polyvinylsaccharide<sup>162</sup> untersucht wurde, zeigte sich, daß 1-Methacrylamido-(1-6'-isomaltit und 1-Acrylamido-(1-6'-isomaltit nach vier Wochen deutlich weniger (14%) abgebaut sind als die ihnen zugrunde liegenden Monomere (38%). Beim Vergleich mit AAm/Vic-Lac(50)-1(2) fällt auf, daß dies Copolymer, welches zu 52% aus Vinylsaccharid-Einheiten aufgebaut ist, bedeutend besser abgebaut wird. In Verbindung mit dem Ergebnis des Monomerabbaus läßt sich vermuten, daß eine gewisse „Verdünnung“ in der Polymerkette die Zugänglichkeit verbessert und somit dem biologischen Abbau förderlich ist. Es ist dabei allerdings zu berücksichtigen, daß Ergebnisse außerhalb der gleichen Versuchsreihe nur schwerlich miteinander zu vergleichen sind, da Art und Zusammensetzung des Klärschlammes in der Regel große Unterschiede aufweisen.

Zur Frage, ob das Stickstoffatom an der Hauptkette einen Kettenabbau ermöglicht, läßt sich folgendes sagen: Das Abflachen der Abbaukurve, besonders deutlich bei AAm/Vic-Lac(50)-1, muß einen Grund haben. Die erwähnten sterischen Hinderungen bieten eine Erklärungsmöglichkeit. In diesem Fall kann die Hauptkette nicht nennenswert angegriffen worden sein. Aufgrund der Natur der eingesetzten Mikroorganismen sagt dies aber noch nichts über die prinzipielle Möglichkeit eines Kettenabbaus aus.

Dieser Substanztyp ist in der kommunalen Kläranlage sicherlich noch nie aufgetreten. Die dortigen Mikroorganismen können also noch keine spezifischen Abbauenzyme entwickelt haben. Zur endgültigen Klärung bedarf es daher weiterführender Untersuchungen. Diese sollten den Einsatz adaptierter Mikroorganismen wie auch die Analyse der nicht vollständig abgebauten Kettensegmente in Lösung einschließen. Eine Teilabbaubarkeit dieses Typs der Polyvinylsaccharide konnte hier jedoch eindeutig bestätigt werden.

Im Rahmen einer erweiterten Untersuchung bezüglich des Abbauverhaltens ist sicher ebenfalls ein Test der neuartigen, in Kapitel 7 erstmals beschriebenen, Polyethersaccharide interessant. Sie sollten (ohne Schutzgruppen) dank der Sauerstoffatome in der Polymerhauptkette und den Saccharidseitengruppen vollständig biologisch abbaubar sein.



## 6.12 Immunologische Untersuchungen

Die Substanzen aus Tabelle 6-22 wurden bei einem Kooperationspartner<sup>163</sup> auf Zytotoxizität getestet. Außerdem wurde überprüft, inwieweit sie die Aktivität von Lymphozyten modifizieren.

Tabelle 6-22: Untersuchte Polymerproben

Polymer	M <sub>w</sub> [g/mol]	P <sub>w</sub>	Zuckereinbau in	
			Mol%	Massen%
AAm/Vic-Lac(9)-1	127300	1467	5	22
AAm/Vic-Lac(20)-1	95900	888	11	41
AAm/Vic-Lac(30)-1	77400	578	18	57
AAm/Vic-Lac(40)-1	59100	371	26	67
AAm/Vic-Lac(50)-1	60300	300	38	78
MVAA/Vic-Lac(10)-1	49900	398	8	28
AAm/Vic-Lac(10)-0.1	2437000	26130	7	29
AAm/Vic-Lac(50)-0.1	266700	1324	38	78
AAm/Vic-Sac(10)-1	213000	2329	6	27
MVAA/Vic-Sac(10)-1	64100	510	9	28
AAm/Vic-Mal(10)-1	146800	1678	5	23
AAm/Vic-Mal(50)-1	68300	407	28	70
MVAA/Vic-Mal(10)-1	67800	569	6	22
MVAA/Vic-Mal(30)-1	46500	293	19	49
PMVAA-0.1	305200	3079	-	-
PMVAA-0.01	1034000	10431	-	-
PAAm-SB4	37000	5205	-	-
PAAm-1	38100	536	-	-

### 6.12.1 Zytotoxische Effekte der Testsubstanzen

Das hier verwandte Testsystem dient der Messung der metabolischen Aktivität von Zellen. Die Meßkurven sind im Anhang, Kapitel 11.3, wiedergegeben.

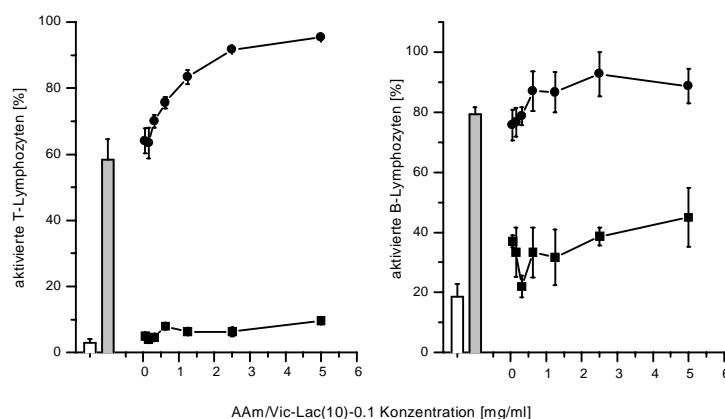
Für keines der getesteten Polymere konnte nach 24 bzw. 72 Stunden eine Zytotoxizität festgestellt werden. Die zelluläre Vitalitätsrate war im Vergleich zu unbehandelten Kontrollen unbeeinflusst. In biologischen Systemen werden Konzentrationen oberhalb der Testkonzentration von 5mg/ml praktisch nicht erreicht, daher ist unter physiologischen Bedingungen bei diesen Polymeren von einer nicht vorhandenen Zytotoxizität im Bereich humaner Immunzellen auszugehen.

Diese Ergebnisse untermauern die bisher nur vermutete Biokompatibilität von Polymeren der hier untersuchten Typen und schaffen damit die Voraussetzung für eine Anwendung im medizinisch-pharmazeutischen Bereich.

### 6.12.2 Einfluß der Polymere auf die funktionelle Aktivität von Lymphozyten

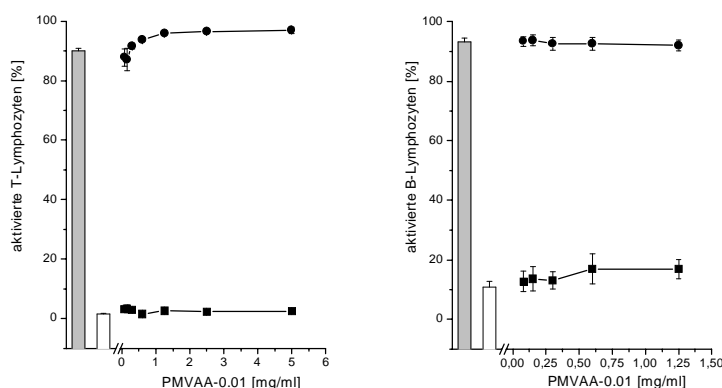
Die folgenden Abbildungen zeigen die konzentrationsabhängige Stimulation der T- und B-Lymphozytenaktivierung durch die Polymerproben. Mononukleäre Zellen wurden mit Polymerprobe ohne (■) Phytohämagglutinin (Effekte auf basalen Aktivierungsstatus) und mit (●) Phytohämagglutinin inkubiert. Anschließend wurde der Anteil der aktivierten T- und B-Zellen im Vergleich zu Kontrollkulturen, welche ohne (leere Balken) oder mit (gefüllte Balken) Phytohämagglutinin (mitogene Stimulation) inkubiert wurden, bestimmt. Abbildung 6-29 und Abbildung 6-30 stellen nur eine Auswahl der Ergebnisse dar. Sämtliche Graphen sind im Anhang, Kapitel 11.4 wiedergegeben.

Abbildung 6-29: Konzentrationsabhängige Stimulation der T- und B-Lymphozytenaktivierung durch AAm/Vic-Lac(10)-0.1



Eine Koinkubation der Zellen mit AAm/Vic-Lac(10)-0.1 und Phytohämagglutinin führt zu einer deutlichen Erhöhung des Anteils der aktivierten T-Zellen, dies gilt in geringerem Maße auch für die B-Zellen.

Abbildung 6-30: Konzentrationsabhängige Stimulation der T- und B-Lymphozytenaktivierung durch PMVAA-0.01



In Gegenwart von PMVAA-0.1 war die Anzahl aktivierter B-Lymphozyten ab einer Testkonzentration ab 600 µg/ml erhöht. Eine statistische Sicherung war auf dem 5 %-Niveau möglich. Der Anteil der durch Phytohämagglutinin (PHA) aktivierten T-Zellen war nach Koinkubation mit PMVAA-0.01 ab Konzentrationen oberhalb von 600 µg/ml erhöht. Diese kostimulatorische Wirkung war statistisch auf dem 5%-Niveau bei Konzentrationen über 1,25 mg/ml sicherbar.

#### Zusammenfassung:

In der Gruppe der AAm/Vic-Lac-Copolymere läßt sich der Trend erkennen, daß ein geringerer Saccharidgehalt eine Erhöhung der Stimulierbarkeit bei den T-Zellen zur Folge hat. Außerdem liegt ein offensichtlicher Einfluß der Kettenlänge vor. So wirken die längerkettigen AAm/Vic-Lac(10)-0.1 bzw. AAm/Vic-Lac(50)-0.1 bedeutend stärker stimulierend auf T-Zellen als ihre kürzeren Pendants AAm/Vic-Lac(10)-1 bzw. AAm/Vic-Lac(50)-1, letzteres ist sogar inaktiv.

Vergleicht man den Einfluß des Comonomeren, so läßt sich nicht mit Sicherheit sagen, ob es einen klaren Trend gibt, da die Copolyme mit Acrylamid signifikant länger sind als ihre Methylvinylacetamid-Pendants und somit der „Längeneffekt“ die Acrylamid-Copolymere favorisiert (Überlagerung von Effekten). PMVAA-0.1 und AAm-Sb4 weisen eine ähnliche Kettenlänge auf. Ein Vergleich zeigt, daß PMVAA-0.1 die T-Zellen stimuliert, wohingegen PAAm-0.1 die B-Zellen geringfügig inaktiviert. Eine einfache Additivität der Eigenschaften der jeweiligen Comonomere scheint daher nicht gegeben.

Auffallend ist auch, daß die auf Lactose basierenden Polymere stärker stimulierend wirken als ihre auf Maltose bzw. Saccharose basierenden Analoga. Die auf Maltose und Saccharose basierenden Polymere weisen am Ende der Seitenketten Glucose- bzw. Fructoseringe auf. Bei der Lactose ist es die auch in oligomerer Form biologisch aktive Galactose<sup>164,165</sup>. Offensichtlich verliert die Galactose, auch an der Polymerkette gebunden, ihre Wirksamkeit nicht.

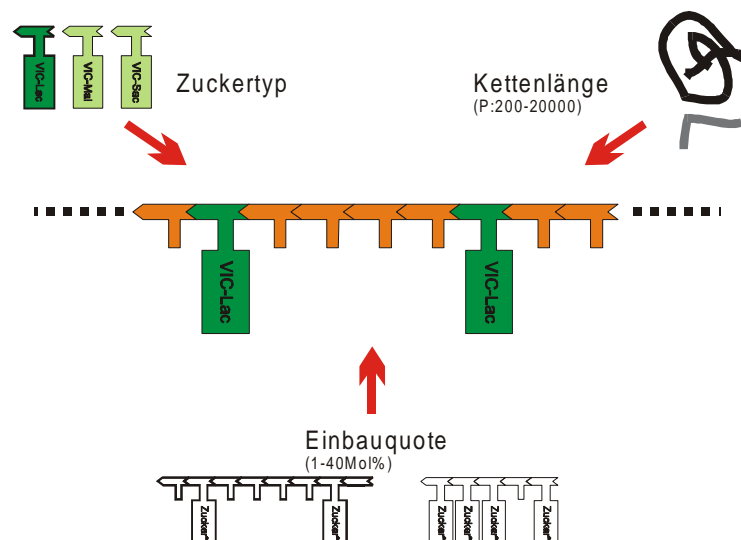
Die deutlichsten Wirkungen wiesen folgende Substanzen auf: AAm/VIC-Lac(10)-0.1 hat eine deutlich positive Wirkung auf die Stimulierbarkeit von T-Zellen. Eine Stimulation des basalen Aktivierungsgrades der B-Lymphozyten ist durch PMVAA-0.01 erfolgt. Auch die T-Zellen werden bei Coinkubation stimuliert, allerdings in geringerem Maße als bei AAm/VIC-Lac(10)-0.1. Alle übrigen Substanzen zeigten hinsichtlich der Modulation der Immunzellaktivierung innerhalb der eingesetzten Testsysteme nur marginale oder keine Wirkung.

Die Konzentrationen, ab der die Substanzen Effekte zeigen, sind via oraler Applikation nicht zu erreichen, mittels lokaler Applikation (Haut/Schleimhaut) jedoch denkbar.

Zwar war es nicht Ziel dieser Arbeit, die Wirkungsweise der Polymere zu erschließen, dennoch läßt sich vermuten, daß es entweder ein Kreuzreiz ist, d.h. die Substanz triggert selber etwas oder sie wirkt als akzessorisches Molekül, d.h. sie unterstützt das Anlagern der „normalen“ Aktivatoren<sup>118</sup>. Ein reiner Größeneffekt ist zum einen aufgrund der Unterschiede zwischen den auf Lactose basierenden Polymeren und denen auf Maltose/Saccharose-Basis, zum anderen wegen der Größenrelation unwahrscheinlich: die größten unter den getesteten Polymeren haben einen Durchmesser von ca. 100nm, ein Lymphozyt ist mit 10.000 nm ca. 100mal größer.

Die deutlichen Unterschiede, die durch die Variation der Parameter Saccharid-Typ<sup>166</sup>, Polymerisationsgrad und Einbauquote erreicht wurden, zeigen, wie empfindlich biologische Systeme auf Veränderungen ihrer chemischen Umwelt reagieren. Der modulare Aufbau der Polyvinylsaccharide, der wie ein Baukastensystem solche Modifikationen ermöglicht, zeigt eindrucksvoll seine Stärken gegenüber modifizierten natürlichen Polysacchariden, bei denen solche Vielfalt und ein damit verbundenes Screening nicht derart einfach zu erreichen ist. Darüber hinaus kann man aufgrund der Überlegenheit der Polymere mit vergleichsweise niedriger Sacchariddichte spekulieren, inwieweit die durch die Comonomere bewirkte Flexibilisierung der Kette Konformationen ermöglicht, in denen sich die Saccharidbausteine flexibel ihrer biochemischen Umgebung (z.B. Rezeptoren der Zellen) anpassen können und somit kooperative Effekte auslösen, die weder einzelne Monomere noch nicht exakt passende Polysaccharide bewirken können.

Abbildung 6-31: Schema zu den favorisierten Parametern: Günstig sind große auf Lactose basierende Polymere mit relativ geringer Saccharideinbauquote



### 6.13 Resümee der biochemischen Untersuchungen

Die Abbauuntersuchungen bestätigten, daß für die untersuchten Polyvinylsaccharide in jedem Fall von einer Teilabbaubarkeit im oxidativen wässrigen Milieu ausgegangen werden kann. Bei der Polymerprobe mit dem höchsten Saccharidanteil (52 Mol%, d.h. 86 Massen%) wurde ca. ein Drittel vollständig mineralisiert, was der radikalsten Definition des Abbaubegriffes entspricht. Unterschiede im Abbauverhalten, die auf die unterschiedlichen Comonomere zurückzuführen wären, konnten nicht beobachtet werden. Um verlässliche Daten zu erhalten, wäre ein Vergleich von Copolymeren nötig, die jeweils Saccharidanteile beinhalten, welche deutlich höher liegen als das beim MVAA/Vic-Lac(10)-1 der Fall war. Dies war bei den geringen Saccharidanteilen aufgrund relativ starker Streuung nicht möglich.

Bei Polyacrylamid wie auch bei Polymethylvinylacetamid wurde erwartungsgemäß kein Abbau beobachtet. Anhand der Mengenbilanzen kann spekuliert werden, daß der detektierte vollständig mineralisierte Teil dem Galactosering entstammt. Dies heißt jedoch nicht, daß die Kette selbst nicht auch angegriffen wurde, da teilweiser Abbau mit dieser Methode nicht nachgewiesen werden kann. Die dem zugrundeliegende Hypothese, daß das Stickstoffatom an der Hauptkette diese gegenüber biologischem Angriff empfänglicher macht, bliebe also noch genauer zu untersuchen. Ein teilweiser Abbau und die damit einhergehende Verkleinerung wäre für biochemische Zwecke schon ein großer Schritt, da Zellen Substanzen unterhalb von 40000 Dalton problemlos ausscheiden können. Ein weiterer Punkt, der bei der Beurteilung der Ergebnisse Berücksichtigung finden muß, ist, daß hier nicht adaptierte Zellen zum Abbau verwendet wurden. D.h. die Mikroorganismen können noch keine spezifischen Abbauenzyme für diese neuen Typen von Substanzen entwickelt haben. Generell bleibt zu bemerken, daß es sich hier nur um Vortests zur Evaluierung der prinzipiellen Abbaubarkeit gehandelt hat. Im Körper herrschen, sowohl vom Milieu wie auch von der Enzymologie her, völlig andere Bedingung als beim Abbau mittels Klärschlamm.

Die Ergebnisse der immunologischen Tests sind sehr ermutigend. Keines der getesteten Polymere weist unter physiologischen Bedingungen eine Zytotoxizität im Bereich humaner Immunzellen auf. Dies untermauert die bisher nur vermutete Biokompatibilität von Polymeren der hier untersuchten Typen und schafft damit die Voraussetzung für eine Verwendung im medizinisch-pharmazeutischen Bereich.

Eine Auswirkung der unterschiedlichen Comonomere konnte aufgrund sich überlagernder Effekte nicht ausgemacht werden. Die Untersuchungen lassen Abhängigkeiten von folgenden Parametern erkennen: Saccharid-Typ, Einbauquote und Polymerisationsgrad. Selbst Maltose und Lactose zeigen, obwohl lediglich eine Hydroxylgruppe in eine andere Richtung weist, unterschiedliche Effekte im Bezug auf ihre immunologische Wirkung. Dies zeigt sehr eindrucksvoll die Selektivität biologischer Systeme. Besonders bemerkenswert ist, daß die bereits in oligomerer Form biologisch aktive Galactose<sup>164,165</sup> offensichtlich auch an der Polymerkette gebunden ihre Wirksamkeit nicht verliert. Ein geringer Saccharidgehalt geht mit verstärkter Aktivität einher. Möglicher-

weise ist die größere Flexibilität der „stärker verdünnten“ Copolymere die Ursache. Die einzelnen Saccharideinheiten können sich somit flexibler den Rezeptorstellen anpassen.

Die Polymere mit großem Polymergrad waren wirksamer als ihre kürzerkettigen Pendants. Die Notwendigkeit einer Mindestgröße im immunologischen Bereich ist eine bekannte Tatsache, daher verwundert diese Tendenz nicht. Die deutlichste Wirkung zeigte entsprechend das AAm/Vic-Lac(10)-0.1, welche die T-Zellen stimuliert. Erstaunlicherweise zeigte auch das saccharidfreie PMVAA-0.01 Effekte auf den basalen Aktivierungsgrad der B-Lymphozyten - möglicherweise ein reiner Größeneffekt. Durch die Untersuchungen wurden also Substanzen identifiziert, die Potential im immunostimulatorischen Bereich aufweisen, wobei die nötigen Konzentrationen allerdings nicht via oraler Applikation zu erreichen sind. Es müsste lokal (Haut bzw. Schleimhaut) appliziert werden.

Die Relevanz der genannten Parameter im Verhalten auf die immunologischen Untersuchungen macht deutlich, wie vorteilhaft das modulare Aufbau der Polymere ist, was gezielte Variationen dieser Parameter erlaubt. Das Baukastensystem hat sich also bewährt, da sich so relativ einfach und gezielt strukturell verschiedene Substanzen mit relevanten Unterschieden in ihrer immunologischen Wirksamkeit herstellen lassen.

## 7 Polyether-Saccharide

Die Synthese der Polyether-Saccharide gründete in dem Wunsch, Pseudopolysaccharide mit einem Heteroatom in der Hauptkette herzustellen. Polymere dieses Aufbaus sollten nicht nur biokompatibel sein wie die Polyvinylsaccharide, sondern diese im Bezug auf das Verhalten beim biologischen Abbau sogar noch übertreffen. Darüberhinaus sollten die Unterschiede zwischen einer Polyether- und einer Polyethylen-Hauptkette interessante Vergleiche (bzgl. der physikochemischen Eigenschaften) zwischen den klassischen Polyvinylsacchariden und diesen Polyether-Sacchariden ermöglichen. Das Anwendungsspektrum der Pseudopolysaccharide wird damit ebenfalls erweitert.

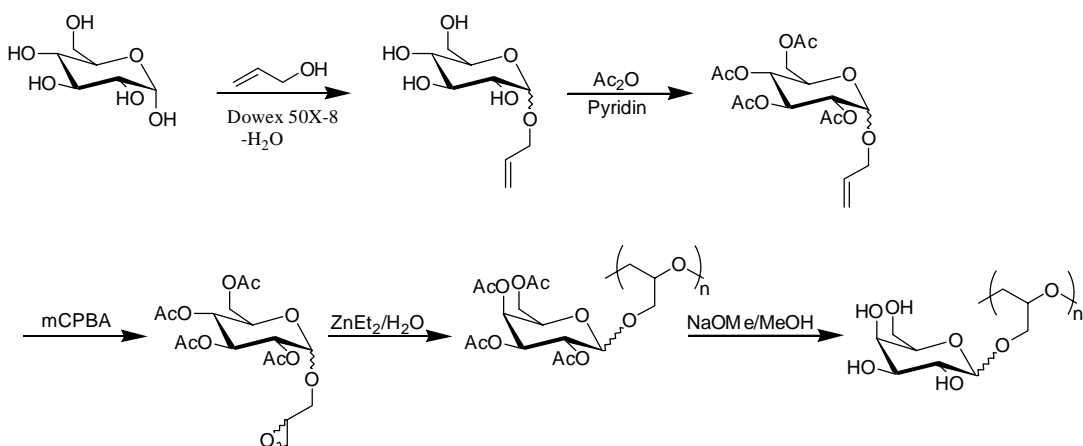
### 7.1 Synthese

Der Weg zu den Polyether-Sacchariden kann analog zu den Polyvinylsacchariden entweder über eine polymeranaloge Umsetzung stattfinden (also durch ein Aufpropfen von Saccharideinheiten an eine Polyether-Hauptkette mit einer reaktiven Seitengruppe) oder durch die Synthese von definierten Monomeren und ihre anschließende Polymerisation. Aus den in der Einleitung gegebenen Gründen wurde hier wie in Kapitel 6 das zweite Vorgehen gewählt.

Die Synthese verläuft somit über folgende Stufen (Abbildung 7-1):

- Emil-Fischer-Glykosidierung
- Acetylierung
- Epoxidierung
- ringöffnende Polymerisation -> wasserunlösliche (thermoplastische) Polymere
- Deacetylierung (optional) -> wasserlösliche Polymere

Abbildung 7-1: Synthesestufen

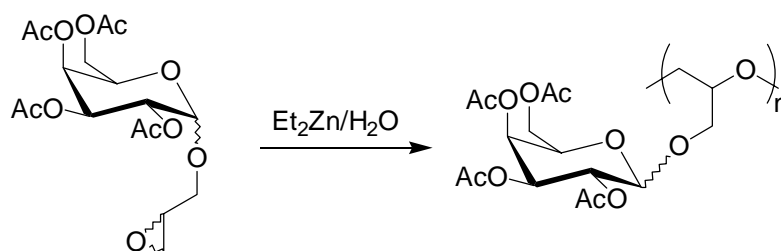


In der ersten Stufe der Sequenz wird die  $\alpha$ -D-Glucose mit Allylkohol unter Verwendung eines stark sauren Kationentauschers (Dowex 50X-8) umgesetzt<sup>167,168</sup>. Es entstehen die  $\alpha$ - und  $\beta$ -Anomere im Verhältnis von ca. 2:1. Im nächsten Schritt wird die Allyl-Glucose vollacethyliert. Dies ist in einfacher Weise mit Hilfe von Essigsäureanhydrid möglich. Die frei werdende Säure wird mit einer äquivalenten Menge Pyridin gebunden<sup>169</sup>. Der Einsatz katalytischer Mengen 4-Dimethylaminopyridins (DMAP) sorgt für eine bedeutende Beschleunigung, so lassen sich auch sterisch anspruchsvollere Zucker leicht umsetzen<sup>170</sup>.

Ein weiterer Vorteil der Acetylschutzgruppe ist die einfache Deacetylierbarkeit mittels Natriummethanolat. Die Epoxidierung des Allyl-D-Glucopyranosid-Tetraacetates gelingt mit 3-Chlorperoxybenzoesäure (mCPBA) nach dem Mechanismus der Prileschajew-Reaktion in guten Ausbeuten<sup>171,172</sup>. Es werden beide Diastereomere dabei erhalten.

Mit der Polymerisation von Epoxypropyl-glucopyranosid-tetraacetat (Abbildung 7-2) gelang erstmals die Darstellung acylierter Polyether-Saccharide. Diese neue Substanzunterklasse besitzt eine Polyether-Hauptkette und (geschützte) Saccharid-Seitenketten. Durch anschließende Deacetylierung mittels Natriummethanolat können wasserlösliche Polyethersaccharide erhalten werden.

Abbildung 7-2: Synthese von Poly(Epoxypropyl-glucopyranosid-tetraacetat)



Die Polymerisation wurde bei 120°C in Substanz durchgeführt und mittels eines Diethylzink/Wasser (1:1)-Initiatorsystems gestartet. Das Wasser dient als Kokatalysator und führt bei diesem Molverhältnis zu einem anionischen Polymerisationsmechanismus. Bei der Verwendung eines Diethylzink/Wasser (1:0.1)-Systems ist ein kationischer Mechanismus mit geringeren Polymergraden und einer breiteren Molmassenverteilung zu erwarten<sup>173</sup>. Die Reaktion wurde in der Schmelze durchgeführt, um trotz der hohen Temperatur gute Ausbeuten zu erreichen.

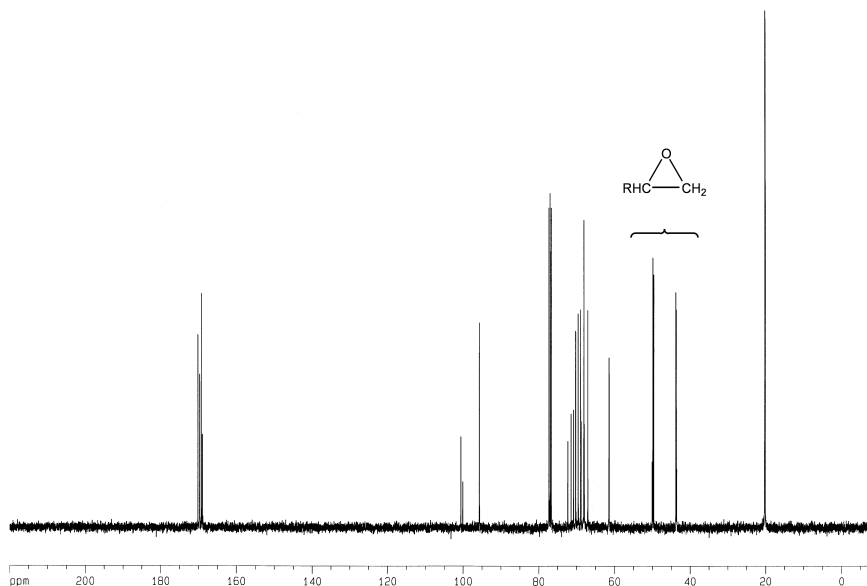


## 7.2 Ergebnisse und Diskussion

Die einzelnen Schritte der Monomersynthese verlaufen jeweils in guten Ausbeuten. Bei der Emil-Fischer-Glykosidierung wie auch bei der Acetylierung sorgt ein entsprechender Überschuß des Reaktionspartners für die gewünschte Gleichgewichtsverschiebung. Für die Epoxidierung gibt es grundsätzlich mehrere Vorgehensweisen. So können niedermolekulare olefinische Kohlenwasserstoffe erfolgreich mit Wasserstoffperoxid, organischen Hydroperoxiden oder Sauerstoff zu Epoxiden umgesetzt werden. Auf Olefine höheren Molekulargewichts bzw. solche mit umfangreichen funktionellen Gruppen können diese Verfahren jedoch nur sehr eingeschränkt angewendet werden. Der Weg zum Epoxid führt hier über Halogenhydrine oder organische Persäuren wie mCPBA.

Die Polymerisation führt zu einem leicht bräunlichen, harten, glasartigen Produkt mit thermoplastischen Eigenschaften. Ein Vergleich der  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren (Abbildung 7-3 und Abbildung 7-4) läßt den Erfolg der Polymerisation gut erkennen.

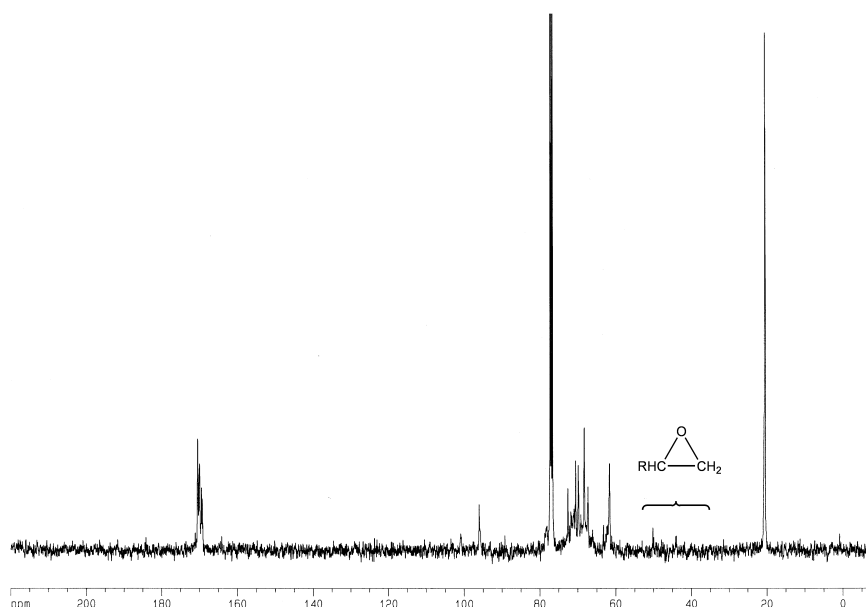
Abbildung 7-3:  $^{13}\text{C}$ -NMR von Epoxypropyl-glucopyranosid-tetraacetat) in  $\text{CDCl}_3$



Die erwartete Bandenverbreiterung einerseits und das fast völlige Verschwinden der Signale für die Epoxid-Kohlenstoffatome korrespondieren mit der erwarteten Struktur. Bei der Bewertung der Rest-Signale für die Epoxidgruppe muß berücksichtigt werden, daß die Signal-Intensität im NMR von der molaren Konzentration der Substanzen abhängt und Monomer-Reste demnach signaltechnisch stark übergewichtet werden.

Selbst ein prozentual sehr geringer Anteil an Monomeren wird also durch vergleichsweise starke Signale hervorgehoben.

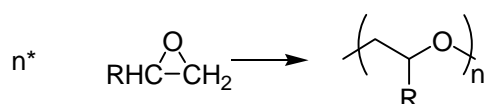
Abbildung 7-4:  $^{13}\text{C}$ -NMR von Poly(Epoxypropyl-gluco-pyranosid-tetraacetat) in  $\text{CDCl}_3$ :



Die Viskositätsmessung in Chloroform ergab einen Staudingerindex von  $[\eta]=6,7\text{ml/g}$ . Die mittlere Molmasse wurde durch Lichtstreuung zu  $M_w=183000\text{g/mol}$  bestimmt. Dies bedeutet einen mittleren Polymergrad von immerhin  $P_w=453$ . Es läßt sich folglich von einem „echten“ Polymer sprechen. Die Glastemperatur  $T_g$  beträgt  $41^\circ\text{C}$  ( $314\text{K}$ ), verglichen mit den ungeschützten C-C-Hauptketten-Polymeren ein vergleichsweise niedriger Wert, der eine entsprechende Kettenflexibilität reflektiert. Dies korrespondiert mit der größeren Flexibilität der substituierten Polyoxy-Verbindungen im Vergleich zu substituierten Polyalkenen (Bsp.: P(t-butylethylen):  $337\text{K}$ ; P(oxy-t-butylethylen):  $308\text{K}$ ).

Die hier synthetisierten Polyether-Saccharide (R=Saccharid in Abbildung 7-5) stellen eine neue Substanzunterklasse dar.

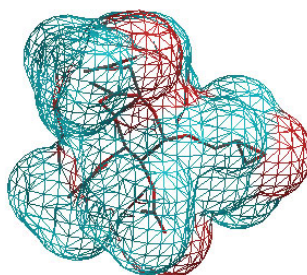
Abbildung 7-5: Polymerisationsschema von 1,2 Epoxiden



Was das Polymerisationsverhalten von Epoxiden angeht, läßt sich sagen, daß der Stammvater aller Polyether, das Polyethylenoxid ( $R=H$ ), relativ leicht aus dem hochreaktiven Ethylenoxid mittels kationischer, anionischer oder koordinativer Polymerisation hergestellt werden kann. Auch Propylenoxid ( $R=CH_3$ ) polymerisiert noch relativ

einfach zu hochmolekularen Polymeren. Je voluminöser der Substituent R jedoch ist, umso schwerer fällt es, hochmolekulare Produkte herzustellen. Das es dennoch möglich ist, zeigen beispielsweise die erfolgreichen ringöffnenden Polymerisationen von p-Chlorphenylglycidylether<sup>174</sup>, Methoxyphenylglycidylether<sup>175</sup> und Isobutylenoxid<sup>176</sup>. In solchen Fällen kommt der Wahl geeigneter Reaktionsbedingungen besondere Bedeutung zu. Die entscheidenden Faktoren sind dabei der Initiator, das Lösungsmittel sowie die Reaktionstemperatur. Das in dieser Arbeit hergestellte und zur Polymerisation genutzte Epoxid ist sterisch noch anspruchsvoller, entsprechend schwierig stellte sich die Suche nach geeigneten Bedingungen dar.

Abbildung 7-6: Epoxypropyl-glucopyranosid-tetraacetat, energieminiert nach PM3



Diethylzink ist ein gängiger koordinativer Initiator, der in Verbindung mit verschiedenen Kokatalysatoren verwendet wird<sup>177</sup>. Bei der Verwendung von Wasser als Kokatalysator kann der Polymerisationsmechanismus abhängig vom Verhältnis Zn zu H<sub>2</sub>O sowohl anionisch als auch kationisch sein<sup>173</sup>. Da der anionische Mechanismus zu höheren Polymergraden führt, wurde in dieser Arbeit das Verhältnis dementsprechend gewählt. Die vergleichsweise hohe Reaktionstemperatur von 120°C reflektiert die niedrige Aktivität dieses Epoxids. Ob dies eher auf sterische oder auf elektronische Gründe zurückzuführen ist, kann hier nicht geklärt werden, Abbildung 7-6 vermittelt jedoch einen Eindruck von den Größenverhältnissen des Moleküls (das Drahtnetz gibt die für Lösungsmittelmoleküle mit dem Radius 1,4 Angström zugängliche Oberfläche an). Möglicherweise läßt sich ein Lösungsmittel finden (z.B. Chlorbenzol oder DMSO), bei dem eine Polymerisation auch bei niedrigeren Temperaturen möglich ist. Dies wäre eine Aufgabe erweiternder Studien.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß es gelungen ist, ein neuartiges hochmolekulares Saccharidpolymer herzustellen. Dabei handelt sich um das erste Produkt einer neuen Substanzunterklasse, das das Spektrum der Pseudopolysaccharide um einen Vertreter erweitert, bei dem sich Heteroatome in der Polymerhauptkette befinden. Diese Polyethersaccharide stellen eine Ergänzung in Bezug auf Eigenschaften wie Löslichkeitsverhalten, Kettenflexibilität sowie Abbauverhalten im Vergleich zu den bereits existie-

renden Pseudopolysacchariden dar und erweitern damit deren Anwendungsspektrum beträchtlich.

Untersuchungen des deacetylierten Produkts sind nötig, um die Eigenschaften in wäßriger Lösung und das Verhalten gegenüber biologischen Abbaus zu analysieren.

## 8 Ausblick

Die Ergebnisse dieser Arbeit bestätigen, daß Polyvinylsaccharide ein großes Potential bei Anwendungen im biochemischen Bereich besitzen. Es konnte gezeigt werden, daß sie immunreaktiv, eindeutig biokompatibel und mindestens teilweise abbaubar sind.

Zukünftige Studien sollten ergänzend auch untersuchen, ob es zu Kettenabbau kommt. Dies könnte z.B. durch eine Analyse der aufgereinigten Klärschlamm suspension mittels SEC und Lichtstreuung geschehen. Eine Veränderung des Molekulargewichts könnte auf diese Weise detektiert werden. Die abgebauten Saccharideinheiten sind dabei zu berücksichtigen.

Durch die Variation der Parameter Polymergrad, Comonomer, Saccharidkomponente und -einbauquote wurde ein breites Spektrum an Testsubstanzen bereitgestellt. Die immunologischen Untersuchungen der Polymere zeigen klare Tendenzen, so daß es in vertiefenden Studien darum gehen sollte, gezielt Substanzen mit den hier als günstig befundenen Ausprägungen herzustellen. Konkret wären also sehr hochmolekulare Polyvinylsaccharidcopolymere auf Lactosebasis zu testen, die eine relativ geringe Zuckereinbaurrate im Bereich unter 10 Mol% aufweisen.

Auch wäre es interessant herauszufinden, inwieweit sich die Ergebnisse auf andere biologische Systeme übertragen lassen. Dafür müßten diese Substanzen mit anderen Assays getestet werden. Möglicherweise lassen sich Polymereigenschaften erkennen, die generell gegeben sein müssen, um biochemische Systeme günstig zu beeinflussen.

Neben den Polyvinylsacchariden haben sich auch Polymethylvinylacetamid und Methylvinylacetamid als interessante Substanzen für den Einsatz im biochemischen Sektor erwiesen. Copolymere mit Methylvinylacetamid verbreitern die bisher existierende Basis der Polyvinylsaccharide. Es wäre zu prüfen, ob die Verseifung von PMVAA unter Bedingungen ablaufen kann, unter denen Vinylsaccharide stabil sind. Auf diese Weise könnten Polymethylvinylamin-Strukturen in die Vinylsaccharide integriert werden – eine Möglichkeit, basische Polyvinylsaccharide zu erhalten, die gegebenenfalls auch kationisiert werden können.

Weitere Aufmerksamkeit verdienen die Itaconsäure/Saccharid-Copolymere. Diese Substanzen sind allein schon aufgrund ihrer Rohstoffbasis attraktiv. Als anionische Komponenten wären hochmolekulare Itaconsäure/Lactose-Copolymere weitere aussichtsreiche Kandidaten, biologische Prozesse zu modifizieren.

Für die Polyether wurde mit dieser Arbeit lediglich eine Tür aufgestoßen. Die Synthese zu vervollkommen und die acetylierten Polyether zu entschützen sind weitere Herausforderungen. Ebenso sind die Charakterisierung dieser Produkte und ihr Vergleich mit Polyvinylsacchariden mit Sicherheit lohnende Aufgaben.

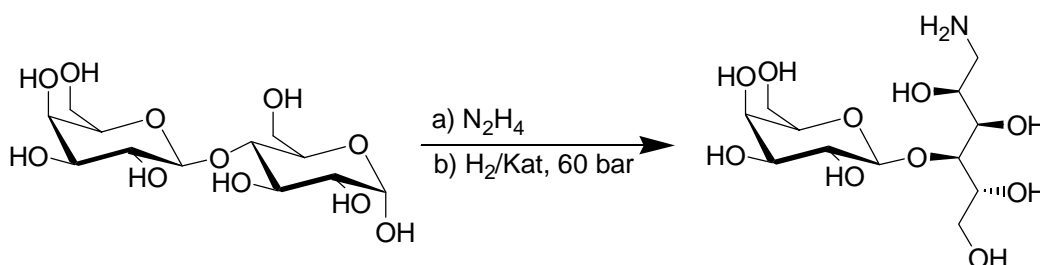
## 9 Experimenteller Teil

### 9.1 Verwendete Chemikalien

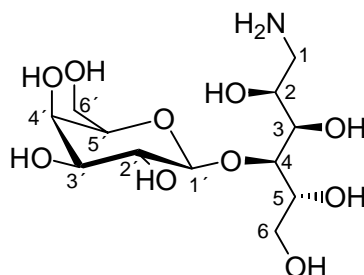
Die verwendeten Chemikalien wurden, sofern keine anderen Angaben gemacht worden sind, in der Reinheit p.a. von den Firmen Aldrich, Merck und Fluka bezogen.

### 9.2 Monomersynthese

#### 9.2.1 1-Amino-1-desoxy-lactitol (Lactosamin)



In einem 3-Liter-Erlenbeyerkolben werden 300g Lactose (0,876mol) mit der vierfachen Menge Hydrazin (3,5mol) in 1,5 Liter Wasser suspendiert und 16 Stunden bei RT gerührt. Das Produkt geht in Lösung. Die Osylaminlösung wird zusammen mit 150g Raney-Nickel (7-7,5g/15g Saccharid) und Wasser in einen 5-Liter-Autoklaven überführt (Gesamtvolumen des Ansatzes ca. 2,5-3 Liter). Der Autoklav wird dreimal mit Wasserstoff gespült, dann wird auf 50°C erwärmt und 24 Stunden bei 70bar Wasserstoffdruck hydriert. Es wird entspannt und die Reaktionslösung aus dem Autoklaven gesaugt. Durch mehrstufiges Abfiltrieren wird der Raney-Nickel-Katalysator von der Reaktionslösung getrennt. Nach Abotieren des entstandenen bzw. überschüssigen Ammoniaks wird das Produkt gefriergetrocknet und als weißer Feststoff in 96% iger Ausbeute erhalten (288g).



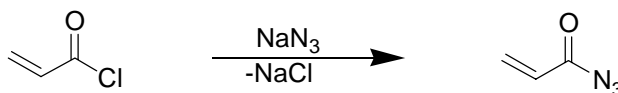
1-Amino-1-desoxy-lactitol (Lactosamin)<sup>178</sup>:

<sup>13</sup>C-NMR (100,6MHz, D<sub>2</sub>O):  $\delta$  = 103,84 (C-1'); 79,88 (C-4); 75,96 (C-5'); 73,64 (C-3'); 73,38 (C-3); 71,98 (C-2); 71,88 (C-2'); 71,46 (C-5); 69,54 (C4'); 62,91 (C-6); 61,78 (C-6'), 43,75 (C-1).

**9.2.2 N-Vinyl-N'-desoxy-lactitol-harnstoff (VIC-Lac)**

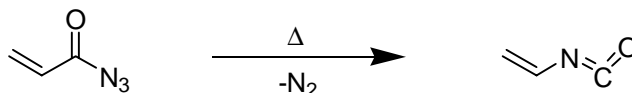
Das Vinylisocyanat muß unmittelbar nach seiner Herstellung eingesetzt werden. Ab der Curtius-Reaktion ist es unbedingt notwendig, zügig zu arbeiten.

## 1) Vinylisocyanat (VIC):



## a) Azidherstellung unter Bedingungen der Phasentransferkatalyse:

26,61g (294mmol) Acrylsäurechlorid werden in 75ml Xylol (64,5g, 608mmol) gelöst (48mol%ige Lösung). Diese Lösung wird in einem thermostatisierbaren 250ml Reaktor auf 0°C gekühlt, dann wird eine Lösung von 23,4g (36mmol) Natriumazid gelöst in 75ml Wasser dazugegeben und sofort 1,5g Tetrabutylammoniumbromid hinzugefügt. Die Emulsion wird drei Stunden bei 0°C heftig gerührt. Die organische Phase wird im Schütteltrichter separiert. Der Reaktor wird mit 2ml Xylol nachgespült (-> 47 Mol%ige Lösung). Anschließend wird die organische Phase zweimal mit je 50ml Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet.



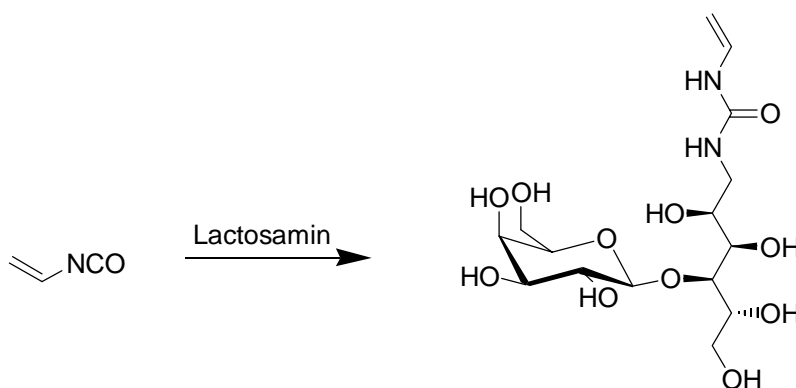
## b) Curtius-Reaktion zu Vinylisocyanat:

Achtung: Acrylsäureazid besitzt Explosionspotential und verpufft in der Hitze leicht! Vinylisocyanat ist leicht flüchtig und extrem gesundheitsschädlich!

Ein trockener 100ml 3-Hals-Kolben mit Magnetrührer und Tropftrichter wird mit einer kleinen Destillationsbrücke (Kühlung mittels Kryostat bei -1°C) ausgerüstet. Die Apparatur wird mehrfach ausgeflammt und mit Stickstoff gespült (absolut wasserfrei).

Unter schwachem Stickstoffdurchfluß wird 1ml Xylol zugegeben und in einem großen Ölbad auf 80°C erhitzt. Die Stickstoffeinleitung wird entfernt und eine Gas auffang-apparatur hinter die Destillationsbrücke geschaltet. Dann wird die filtrierte Azid-Lösung langsam tropfenweise zugegeben (Tropfgeschwindigkeit ca. zwei Tropfen pro Sekunde), so daß das gebildete Isocyanat kontinuierlich abdestilliert. Ausbeute der leichtflüchtigen, klaren Flüssigkeit: 6,99g (34%).

## 2) VIC-Lac:



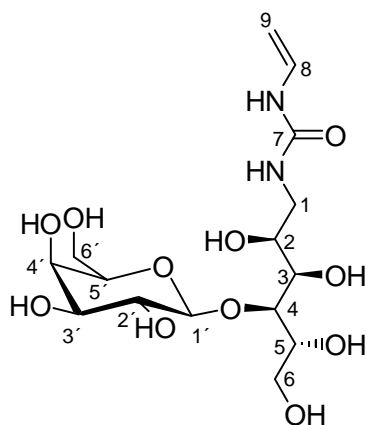
### a) in Wasser:

In einem thermostatisierbaren 100ml Reaktor mit Magnetprüher werden 10g (29mmol) Lactosamin in 30 ml Wasser gelöst und auf 0°C gekühlt. Bei dieser Temperatur werden unter starkem Prühen tropfenweise 2g (29mmol) frisch destilliertes Vinylisocyanat (VIC) addiert. Nach vollständiger Zugabe des Isoccyanats Prüht man noch eine Stunde bei 0°C, und zur Vervollständigung der Reaktion weitere zwei Stunden bei +5°C. Zur Aufarbeitung wird die Lösung dreimal mit peroxidfreiem Ether extrahiert, die wäßrige Phase abgetrennt und gefriergetrocknet. Das Produkt ist als weißer Feststoff in 86% (10,3g) Ausbeute zu erhalten.

### b) in DMSO:

In einem thermostatisierbaren 100ml Reaktor mit Magnetprüher werden 10g (29,1mmol) Lactosamin in 50ml DMSO bei 20°C gelöst. Bei dieser Temperatur werden unter starkem Prühen tropfenweise 2g (29mmol) frisch destilliertes Vinylisocyanat (VIC) addiert. Nach vollständiger Zugabe des Isocyanats wird noch eine Stunde gerührt. Zur Aufarbeitung wird die Lösung in Aceton/Ether gefällt. Der Feststoff wird mit etwas Wasser aufgenommen und mittels einer kurzen Taborsäule über einen halben Zentimeter Aktivkohle filtriert. Die Lösung wird eingefroren, das Wasser an der HV verdampft. Man erhält 8,5g (71%) eines weißen Feststoffs.

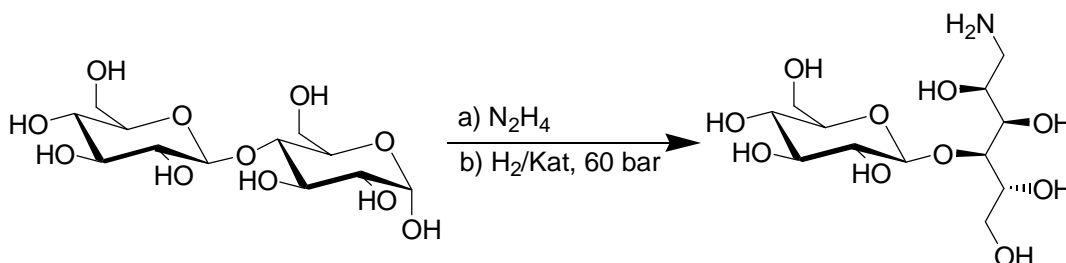




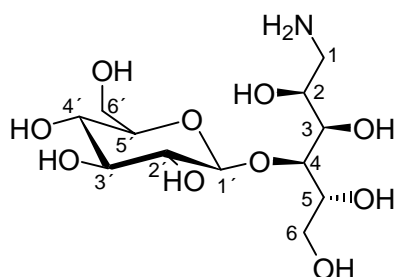
N-Vinyl-N'-desoxy-lactitol-harnstoff (VIC-Lac):

$^{13}\text{C}$ -NMR (100,6MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta = 159,75$  (C-7);  $132,29$  (C-8);  $105,64$  (C-1');  $94,74$  (C-9);  $82,04$  (C-4);  $77,54$  (C-5');  $75,09$  (C-3');  $73,82$  (C-3);  $73,61$  (C-2);  $73,11$  (C-2');  $72,69$  (C-5);  $71,06$  (C-4');  $64,58$  (C-6);  $63,32$  (C-6'),  $44,85$  (C-1).

### 9.2.3 1-Amino-1-desoxy-maltitol (Maltosamin)



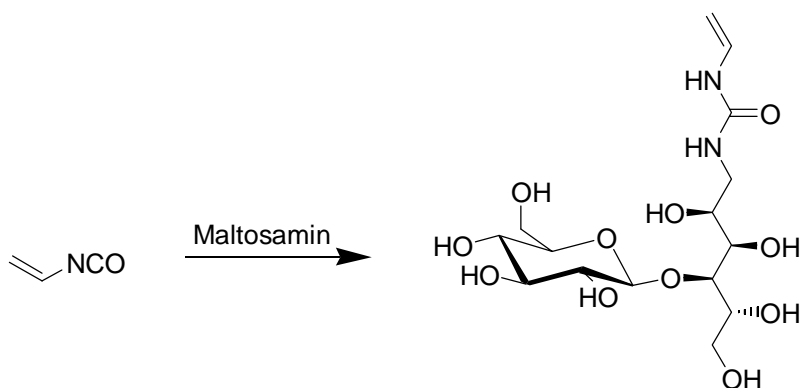
In einem 3-Liter-Erlenbeyerkolben werden 300g Maltose (0,876 mol) mit der vierfachen Menge Hydrazin (3,5mol) in 1,5 Liter Wasser suspendiert und 16 Stunden bei RT gerührt. Das Produkt geht in Lösung. Die Osylaminlösung wird zusammen mit 150g Raney-Nickel (7-7,5g/15g Saccharid) und Wasser in einen 5-Liter-Autoklaven überführt. (Gesamtvolumen des Ansatzes ca. 2,5-3 Liter). Der Autoklav wird dreimal mit Wasserstoff gespült, dann wird auf 50°C erwärmt und 24 Stunden bei 70bar Wasserstoffdruck hydriert. Es wird entspannt und die Reaktionslösung aus dem Autoklaven gesaugt. Durch mehrstufiges Abfiltrieren wird der Raney-Nickel-Katalysators von der Reaktionslösung getrennt. Nach Abrotieren des entstandenen bzw. überschüssigen Ammoniaks wird das Produkt gefriergetrocknet und als weißer Feststoff in 94%iger Ausbeute erhalten (282g).



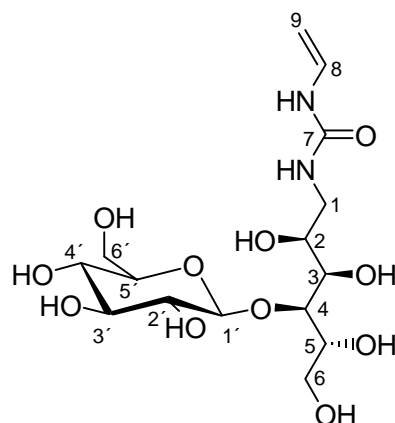
#### 1-Amino-1-desoxy-maltitol (Maltosamin):

$^{13}\text{C}$ -NMR (100,6MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  = 103,08 (C-1'); 84,39 (C-4); 75,40 (C-5'); 75,11 (C-3'); 74,99 (C-3); 74,84 (C-2); 74,15 (C-2'); 74,01 (C-5); 71,90 (C-4'); 64,82 (C-6); 62,94 (C-6'), 46,00 (C-1).

#### **9.2.4 N-Vinyl-N'-desoxy-maltitol-harnstoff (VIC-Mal)**



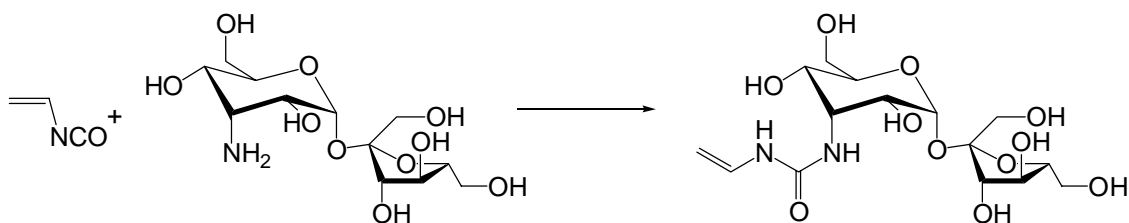
In einem thermostatisierbaren 100ml Reaktor mit Magnetrührer werden 10g (29mmol) Maltosamin in 30 ml Wasser gelöst und auf 0°C gekühlt. Bei dieser Temperatur werden unter starkem Rühren tropfenweise 2g (29mmol) frisch destilliertes Vinylisocyanat (VIC) addiert. Nach vollständiger Zugabe des Isocyanats rührt man noch eine Stunde bei 0°C, und zur Vervollständigung der Reaktion weitere zwei Stunden bei +5°C. Zur Aufarbeitung wird die Lösung dreimal mit peroxidfreiem Ether extrahiert, die wäßrige Phase abgetrennt und gefriergetrocknet. Das Produkt ist als weißer Feststoff in 83% (10g) Ausbeute zu erhalten.



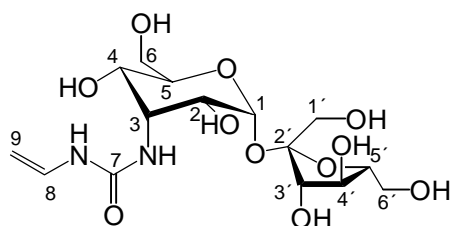
N-Vinyl-N'-desoxy-maltitol-harnstoff (VIC-Mal):

$^{13}\text{C}$ -NMR (100,6MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  = 157,49 (C-7); 130,10 (C-8); 100,86 (C-1'); 92,65 (C-9); 82,21 (C-4); 73,26 (C-5'); 72,89 (C-3'); 72,79 (C-3); 72,00 (C-2); 71,44 (C-2'); 70,40 (C-5); 69,73 (C4'); 62,59 (C-6); 60,78 (C-6'), 43,00 (C-1).

### 9.2.5 N-Vinyl-N'-desoxy-saccharitol-harnstoff (VIC-Sac)



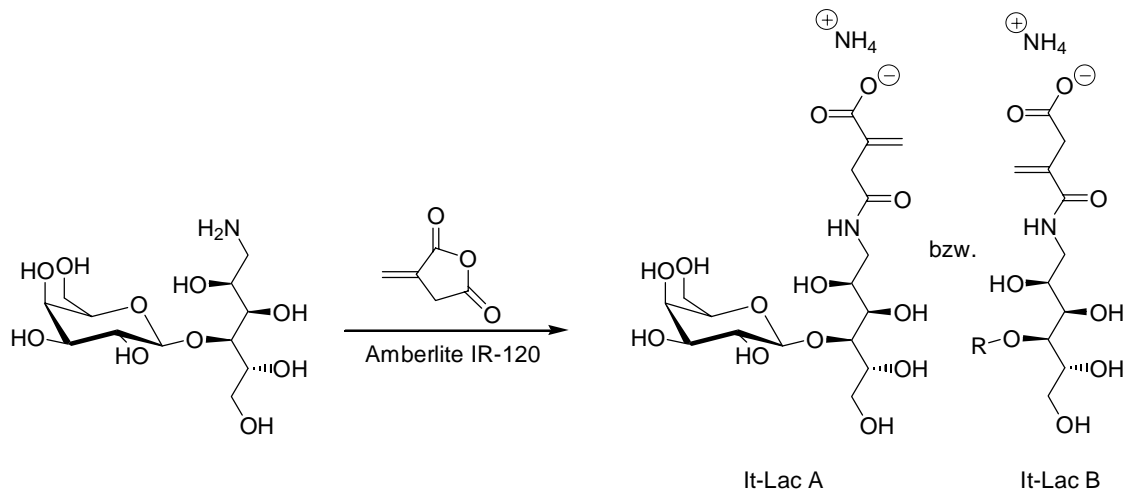
In einem thermostatisierbaren 100ml Reaktor mit Magnetrührer werden 10g (29mmol) der vom Zuckerinstitut zur Verfügung gestellten 3-Amino-3-desoxy-2-O-( $\alpha$ -D-glucopyranosyl)-D-fructofuranose (3-Amino-Saccharose) in 30 ml Wasser gelöst und auf 5°C gekühlt. Bei dieser Temperatur werden unter starkem Rühren tropfenweise 2g (29mmol) frisch destilliertes Vinylisocyanat (VIC) addiert. Nach vollständiger Zugabe des Isocyanats rührt man noch drei Stunden bei 5°C. Es werden 50ml Wasser zugegeben, dann wird die Lösung dreimal mit peroxidfreiem Ether extrahiert, die wäßrige Phase abgetrennt und gefriergetrocknet. Man erhält 9,5g (80%) eines weißen Feststoffs.



#### N-Vinyl-N'-desoxy-saccharitol-harnstoff (VIC-Sac):

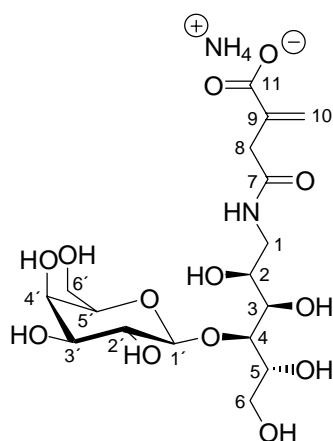
$^{13}\text{C}$ -NMR (100,6MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  = 160,13 (C-7); 132,25 (C-8); 106,52 (C-2'); 95,02 (C-9); 94,64 (C-1); 84,10 (C-3'); 78,86 (C-5'); 76,27 (C-2); 71,06 (C-5); 67,86 (C-4); 67,47 (C-4'); 64,60 (C-1'); 64,00 (C-6); 62,70 (C-6'); 55,55 (C-3).

**9.2.6  $\alpha$ -(N-Acetamido-1-desoxy-1-desoxy-lactitol)-acrylsäure (It-Lac A)  
und  $\alpha$ -( $\beta$ -Acetyl)-N-Acrylamido-1-desoxy-lactitol (It-Lac B)**

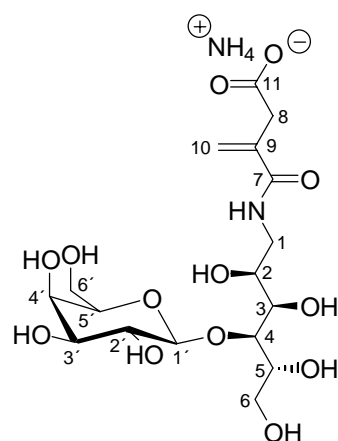


Synthese:

In einem thermostatisierbaren 100ml Reaktor werden 4g (11,7mmol) Lactosamin in 40ml Wasser gelöst und auf 0°C gekühlt. 660mg (5,89mmol) Itaconsäureanhydrid werden unter Rühren in kleinen Portionen dazugegeben. Nach drei Stunden wird die Temperatur auf 25°C erhöht und es wird noch einmal eine Stunde gerührt. Die Lösung wird mit Wasser verdünnt, filtriert und gefriergetrocknet. Das überschüssige Lactosamin wird mittels eines mit Ammonium-Ionen beladenen starken Kationentauschers (Amberlite IR-120) abgetrennt (0,5g Produktmischung pro ml Wasser gelöst und aufgegeben; Produkt mit Wasser eluiert, Lactosamin mit Ammoniak-Lösung) und kann weiter verwendet werden. Der weiße Feststoff kann in einer Ausbeute von 74%, bezogen auf das eingesetzte Itaconsäureanhydrid, gewonnen werden.



It-Lac A



It-Lac B

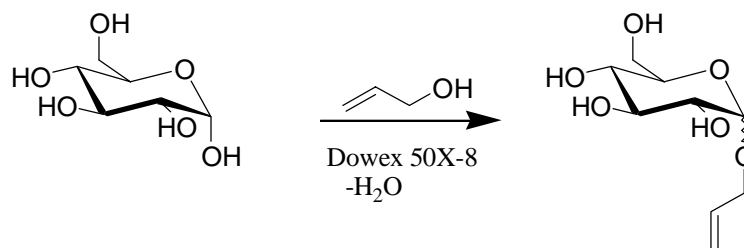
$\alpha$ -(N-Acetamido-1-desoxy-1-desoxy-lactitol)-acrylsäure (It-Lac A) und  $\alpha$ -( $\beta$ -Acetyl)-N-Acrylamido-1-desoxy-lactitol (It-Lac B).

Achtung: Die chemischen Verschiebungen im Bereich der Itaconid-Gruppe sind deutlich pH-abhängig<sup>179</sup>:

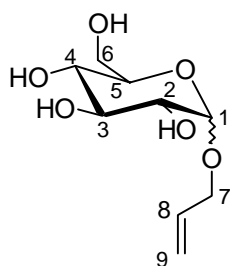
It-Lac A:  $^{13}\text{C}$ -NMR (100,6MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  = 175,32 (C-11); 175,14 (C-7); 140,00 (C-9); 125,79 (C-10); 103,88 (C-1'); 80,31 (C-4); 75,82 (C-5'); 73,38 (C-3'); 72,15 (C-2); 71,90 (C-3); 71,02 (C-5); 70,95 (C-2'); 69,37 (C-4'); 62,88 (C-6); 61,61 (C-6'); 42,86 (C-1); 41,05 (C-8).

It-Lac B:  $^{13}\text{C}$ -NMR (100,6MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  = 179,71 (C-11); 172,34 (C-7); 140,30 (C-9); 124,78 (C-10); 103,88 (C-1'); 80,39 (C-4); 75,82 (C-5'); 73,38 (C-3'); 72,15 (C-2); 71,10 (C-3); 71,02 (C-5'); 70,95 (C-2'); 69,37 (C-4'); 62,88 (C-6); 61,61 (C-6'); 43,02 (C-1); 41,95 (C-8).

### 9.2.7 Allyl-D-Glucopyranosid



Ein 2-Liter-Dreihalskolben mit Rückflußkühler, Stickstoffeinleitung, Blasenähler und KPG-Rührer wird zweimal ausgeheizt und mit Stickstoff gespült. 1,5 Liter (22,09mol) abs. Allylalkohol werden vorgelegt und 75g trockenes Dowex 50 X-8 zum Vorquellen hinzugefügt. Unter Rühren (450 U/min) wird der Ansatz innerhalb von 45min auf die Siedetemperatur des Allylalkohols (97°C) erhitzt. Anschließend werden 135g D(+)-Glucose zügig hinzugesetzt. Es entsteht eine weiße Suspension, die nach ca. 15min dunkelbraun wird. Nach 90min unter Rückflußbedingungen wird die braune Lösung über eine G4-Filternutsche vom Harz heiß abfiltriert und das Harz mehrmals mit insgesamt 50 ml Allylalkohol gewaschen. Der Ansatz wird am Rotationsverdampfer (30mbar, 40°C) zu einem braunen Sirup eingengt und über Nacht im Vakuumschrank bei 50°C und 0,6 mbar getrocknet. Das Rohprodukt wird durch Ausschütteln mit Chloroform und Wasser gereinigt. Die extrahierte wäßrige Phase wird über eine kurze Aktivkohlesäule (Schichtdicke ca. 3cm) filtriert. Das Filtrat wird am Rotationsverdampfer eingengt und gefriergetrocknet. Das Produkt ist ein farbloser, klebriger Feststoff. Die Ausbeute beträgt 104,8g (63%).



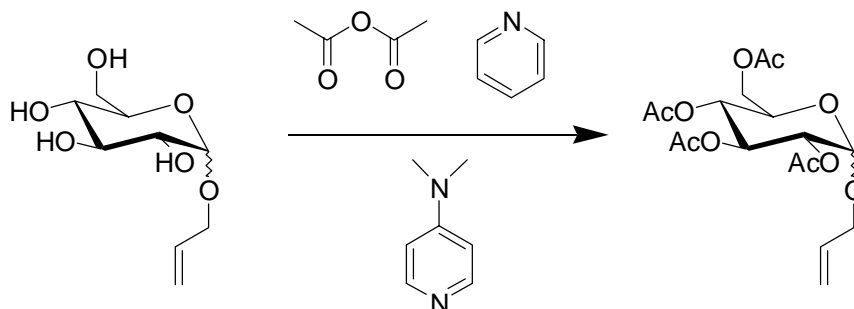
#### α-Anomer:

$^{13}\text{C}$ -NMR (100,6MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  = 136,13 (C-8); 120,77 (C-9); 99,87 (C-1); 75,67, 74,39, 73,79, 72,16 (C-2, C-3, C-4, C-5); 71,00 (C-7); 63,11 (C-6).

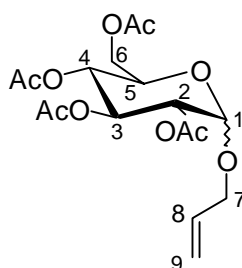
#### β-Anomer:

$^{13}\text{C}$ -NMR (100,6MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  = 135,90 (C-8); 121,33 (C-9); 103,75 (C-1); 78,46, 78,36, 75,67, 72,22 (C-2, C-3, C-4, C-5); 73,16 (C-7); 63,34 (C-6).

### 9.2.8 Allyl-D-glucopyranosid-tetraacetat



20g (90,8 mmol) Allylglucopyranosid werden in 103ml (111g, 1,09 mol) Essigsäureanhydrid bei 0°C in einem 250ml Rundkolben suspendiert. Dazu werden langsam über zwei Stunden 30ml (28,7g, 363mmol) Pyridin getropft und weitere zwei Stunden bei 0°C (Eiskühlung) gerührt. Das Eisbad wird entfernt und zur Vervollständigung der Reaktion läßt man noch zwei Stunden weiter rühren (DC-Kontrolle: Ethylacetat:Hexan=1:3; Polygram SIL G/UV<sub>254</sub> 0,25mm Kieselgel mit Fluoreszenzindikator). Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer (40°C, 40mbar) unter mehrfacher Wasserzugabe bis auf etwa 250ml einrotiert und dann erneut über Nacht gerührt. Mit mehrfachem Wasserzusatz wird das Rohprodukt bis auf 50ml am Rotationsverdampfer eingeengt, bis es nicht mehr sauer reagiert. Zur Reinigung nimmt man es in 150ml Chloroform auf und schüttelt mit je 150ml Natriumhydrogencarbonat-Lösung und Wasser aus. Die organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet und anschließend filtriert. Danach filtriert man über eine kurze Säule (unten Kieselgel, oben wenig Aktivkohle). Das Chloroform wird am Rotationsverdampfer abgetrennt, anschließend wird an der HV getrocknet. Ausbeute: 23,3g (65,4mmol, 72%),  $R_F$ -Wert: 0,74 (Ethylacetat:n-Hexan=1:3)



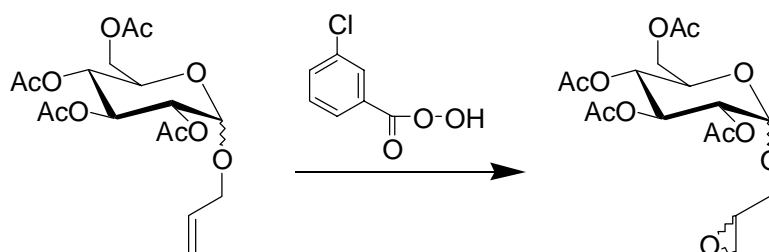
#### $\alpha$ -Anomer:

$^{13}\text{C}$ -NMR (100,6MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 170,41, 169,91, 169,87, 169,40 ( $-\text{CO}_2$  4Acetylgruppen); 132,94 (C-8); 117,95 (C-9); 94,66 (C-1); 70,54, 69,96, 68,37, 67,17 (C-2, C-3, C-4, C-5); 68,59 (C-7); 61,69 (C-6); 20,52, 20,49, 20,49, 20,42 ( $-\text{CH}_3$  4 Acetylgruppen).



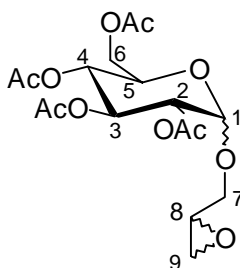
$\beta$ -Anomer:

$^{13}\text{C}$ -NMR (100,6MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 170,44, 170,06, 169,20, 169,10 (-CO<sub>2</sub> 4Acetylgruppen); 133,16 (C-8); 117,41 (C-9); 99,37 (C-1); 72,67, 71,58, 71,09, 68,24 (C-2, C-3, C-4, C-5); 69,81 (C-7); 61,75 (C-6); 20,52, 20,49, 20,49, 20,42 (-CH<sub>3</sub> 4 Acetylgruppen).

**9.2.9 Epoxypropyl-glucopyranosid-tetraacetat**

Epoxidierungen und Hydroxylierungen können sehr heftig verlaufen. Die Reaktionen sind stets hinter einem Schutzschild durchzuführen.

6g (15,45mmol) Allyl-D-glucopyranosid-tetraacetat werden in einem 250ml Rundkolben in 20ml Chloroform gelöst. 8g (<35,70mmol) mCPBA (<77%ig) werden in 80ml Chloroform gelöst und unter Rühren bei Raumtemperatur über den Zeitraum von 30min zugetropft. Anschließend läßt man weiter über Nacht rühren (DC-Kontrolle). Zur Reaktionslösung werden 100ml Chloroform gegeben und anschließend wird mit je 200ml folgender Lösungen sukzessive gewaschen: Natriumsulfit, Natriumhydrogencarbonat, Natriumthiosulfat, Natriumcarbonat und zweimal mit Wasser. Es wird über Natriumsulfat getrocknet, einrotiert und an der HV im 250ml Kolben getrocknet. Das Rohprodukt wird mit etwas Ethylacetat aufgenommen und säulenchromatographisch aufgereinigt (Kieselgelsäule, Diethylether).



$\alpha$ -Anomer:

$^{13}\text{C}$ -NMR (100,6MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 170,10, 169,67, 169,65, 169,61, 169,59, 169,15 (- $\text{CO}_2$  8 Acetylgruppen); 95,70, 95,66 (C-1); 70,22, 69,60, 69,58, 68,09, 68,05, 67,07, 67,05 (insg. 8 von C-2, C-3, C-4, C-5); 68,97, 68,09 (C-7); 61,50, 61,43 (C-6); 49,89, 49,65 (C-8); 43,84, 43,68 (C-9); 20,27, 20,24, 20,22, 20,18 (- $\text{CH}_3$  8 Acetylgruppen).

 $\beta$ -Anomer:

$^{13}\text{C}$ -NMR (100,6MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 170,14, 170,11, 169,71, 169,15, 168,99, 168,94 (- $\text{CO}_2$  8 Acetylgruppen); 100,67, 100,56 (C-1); 72,36, 72,31, 71,45, 70,81, 70,27, 67,99 (insg. 8 von C-2, C-3, C-4, C-5); 70,27, 68, 80 (C-7); 61,47 (zwei C-6); 50,09, 49,80 (C-8); 43,64, 43,59 (C-9); 20,27, 20,24, 20,22, 20,18 (- $\text{CH}_3$  8 Acetylgruppen).

## 9.3 Polymerisation

### 9.3.1 Radikalische Polymerisation

Die Polymerisation wurde in einem mit Stickstoff durchspülten, thermostatisierbaren Glasreaktor mit Magnetrührer durchgeführt. Die Monomere werden in dem Reaktor in destilliertem, entgastem Wasser gelöst. Anschließend wird eine Stunde lang Stickstoff durch die Lösung geleitet. Bei Copolymerisationen mit MVAA wird die Zuckerkomponente unmittelbar vor der Polymerisation als Feststoff zugegeben.

Gestartet wurde die Polymerisation durch die Injektion der Initiatorlösungen. Abhängig von den Monomeren wurde entweder ein Redoxsystem ( $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8/\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ ) für die Copolymere mit Acrylamid, bzw. ein wasserlöslicher Azoinitiator (Wako VA-044) für die Copolymere mit Methylvinylacetamid gewählt.

Die Polymerisation wird durch Einspritzen von Luft abgebrochen. Zum Entfernen niedermolekularer Oligomere wurde etwa 14 Tage lang gegen destilliertes Wasser dialysiert (Fa. Medicell, London, Celluloseacetat Dialyseschlauch mit Ausschlußgrenze 12000-14000 Dalton). Nach der Dialyse wurden die Polymere filtriert, gefriergetrocknet und als weiße, watteartige Feststoffe gewonnen.

Die exakten Bedingungen sind den Tabellen zu entnehmen.

Tabelle 9-1: Reaktionsbedingungen für das Screening nach Comonomeren

VIC-Lac/Comonomer	Rkt.Volumen [ml]	M <sub>1</sub> [g]	M <sub>2</sub> [g]	Initiator	C <sub>init</sub> [Mol%]	Temp. [°C]	Rkt-Zeit [h]	Ausbeute [g]/[%]
Acryloylmorpholin	70	2	6,16	Redox	1	30	48	AM-Homo
Acrylsäure	60	1	1,75	Redox	1	30	48	AA-Homo
Acrylsäuremethylether	60	1	2,09	Redox	1	30	48	0/0
AHEE	90	2	2,25	Redox	1	30	48	0/0
Vinylimidazol	190	3	6,16	Redox	1	30	48	0/0
Vinylpyrrolidon	25	6	0,26	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /NH <sub>3</sub>	0,2/0,5	50	48	0/0

Tabelle 9-2: Reaktionsbedingungen für die Polymerisation von Methylvinylacetamid in Wasser

Polymer	Rkt.Volumen [ml]	M <sub>1</sub> [g]	C <sub>init</sub> [Mol%]	Rkt.-Zeit [h]	Ausbeute [g]/[%]
PMVAA-0.01	200	10	0,01	48	5,5/55
PMVAA-0.05	200	10	0,05	48	5,7/57
PMVAA-0.1	200	10	0,10	48	6,4/64
PMVAA-0.5	200	10	0,50	48	7,4/74
PMVAA-1	200	10	1,00	48	6,1/61

Die Polymerisationen wurden in Wasser bei 60°C durchgeführt, als Initiator wurde Wako VA-044 verwendet. PMVAA läßt sich in Aceton fällen.

Tabelle 9-3: Reaktionsbedingungen für die Polymerisation der VIC-Lac-Copolymere

Polymer	Rkt.Volumen [ml]	M <sub>1</sub> [g]	M <sub>2</sub> [g]	C <sub>Init</sub> [Mol%]	Rkt-Zeit [h]	Ausbeute [g]/[%]
AAm/Vic-Lac(9)-1	60	1,72	1	1	24	1,6/59
AAm/Vic-Lac(10)-1	270	7,76	5	1	24	8,9/69
AAm/Vic-Lac(20)-1	70	1,38	2	1	24	2,2/64
AAm/Vic-Lac(30)-1	90	1,21	3	1	24	2,5/60
AAm/Vic-Lac(40)-1	105	1,03	4	1	24	1,3/26
AAm/Vic-Lac(50)-1	70	0,57	3	1	24	1,0/28
AAm/Vic-Lac(50)-1(2)	70	1,14	6	1	24	2,5/35
AAm/Vic-Lac(10)-0.1	270	7,76	5	0,1	24	7,7/60
AAm/Vic-Lac(50)-0.1	220	1,55	9	0,1	24	2,1/20
MVAA/Vic-Lac(10)-1	60	2,16	1	1	24	1,5/47
MVAA/Vic-Lac(30)-1	90	1,68	3	1	24	1,7/36
MVAA/Vic-Lac(50)-1	85	0,52	3	1	24	0/0
AAm/It-Lac(9)-1	40	1,13	0,75	1	24	1,5/78
NaAA/Vic-Lac(10)-0.5	80	3	6,16	0.5	48	1,0/10

Polymerisiert wurde in Wasser, und zwar bei 30°C für die AAm-Copolymere und bei 60°C für die MVAA-Copolymere. Im ersten Fall wurde das Redox-Initiatorsystem verwendet, im zweiten der Wako/VA-044-Starter.

Tabelle 9-4: Reaktionsbedingungen für die Polymerisation der VIC-Mal-Copolymere

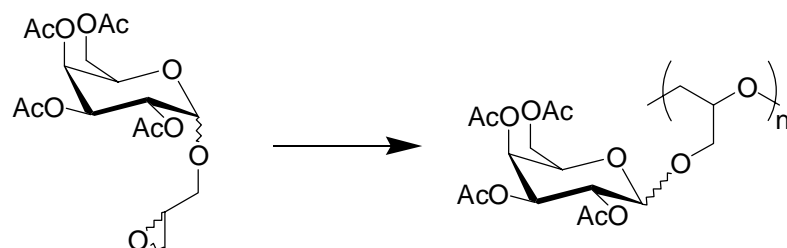
Polymer	Rkt.Volumen [ml]	M <sub>1</sub> [g]	M <sub>2</sub> [g]	C <sub>Init</sub> [Mol%]	Rkt-Zeit [h]	Ausbeute [g]/[%]
AAm/Vic-Mal(10)-1	150	4,7	3	1	24	5,1/67
AAm/Vic-Mal(30)-1	80	1,2	3	1	24	1,9/45
AAm/Vic-Mal(50)-1	120	0,86	5	1	24	2,1/36
AAm/Vic-Mal(10)-1(2)	50	1,6	1	1	2,5	1,4/54
AAm/Vic-Mal(30)-1(2)	34	0,8	2	1	2,5	1,3/46
AAm/Vic-Mal(40)-1(2)	38	0,78	3	1	2,5	1,4/37
AAm/Vic-Mal(50)-1(2)	40	0,69	4	1	3	1,5/32
AAm/Vic-Mal(60)-1(2)	34	0,46	4	1	3	1,7/38
AAm/Vic-Mal(70)-1(2)	35	0,37	5	1	3	1,7/32
MVAA/Vic-Mal(10)-1	100	3,10	2	1	24	2,1/41
MVAA/Vic-Mal(30)-1	80	1,21	3	1	24	1,5/36
MVAA/Vic-Mal(50)-1	70	0,52	3	1	24	0,1/2

Tabelle 9-5: Reaktionsbedingungen für die Polymerisation der VIC-Sac-Copolymere

Polymer	Rkt.Volumen [ml]	M <sub>1</sub> [g]	M <sub>2</sub> [g]	C <sub>init</sub> [Mol%]	Rkt-Zeit [h]	Ausbeute [g]/[%]
AAm/Vic-Sac(10)-1	40	1,17	0,75	1	24	1,6/82
AAm/Vic-Sac(30)-1	20	0,55	1,35	1	24	1,2/63
AAm/Vic-Sac(50)-1	20	0,35	2	1	24	1,0/43
MVAA/Vic-Sac(10)-1	40	1,63	0,75	1	24	1,3/55
MVAA/Vic-Sac(30)-1	30	0,99	1,75	1	24	,3/11
MVAA/Vic-Sac(50)-1	20	0,48	2	1	24	0/0

### 9.3.2 Ringöffnende Polymerisation

#### Poly(Epoxypropyl-glucopyranosid-tetraacetat):



In einen 5ml-Rundkolben werden 2g Epoxypropyl-glucopyranosid-tetraacetat vorgelegt und mittels Silikonölbad auf 120°C erwärmt. Nach einer Stunde werden zu der klaren Schmelze 495µl/359mg (10mol%) Diethylzink-Lösung und 9µl Wasser hinzugefügt. Die Schmelze wird zwei Tage bei 120°C weiter gerührt. Nach dieser Zeit ist die ehemals niedrigviskose, farblose Schmelze spürbar viskos und orange bis hellbräunlich geworden, bei Raumtemperatur ist das Produkt hart und glasartig. Das Polymer kann in 7ml Chloroform komplett gelöst werden und fällt in Aceton.

## 9.4 Kernresonanzspektroskopie (NMR)

Die NMR-Spektren wurden im NMR-Laboratorium der Chemischen Institute an der TU Braunschweig und an der Gesellschaft für Biotechnologische Forschung (GBF), Braunschweig-Stöckheim, mit folgenden Geräten der Fa. Brucker, Karlsruhe, aufgenommen:

- Spektrometer:
- Brucker AM 300 ( $^1\text{H}$ -NMR: 300 MHz,  $^{13}\text{C}$ -NMR: 75,5 MHz)
  - Brucker AM 400 ( $^1\text{H}$ -NMR: 400 MHz,  $^{13}\text{C}$ -NMR: 100,6 MHz)
- Lösungsmittel:
- Deuteriumoxid
  - Deuteriochloroform
  - Dimethylsulfoxid- $\text{D}_6$
  - Methanol- $\text{D}_4$

## 9.5 Elementaranalyse (EA)

Die Bestimmung der Massenanteile an Kohlenstoff, Wasserstoff und Stickstoff wurden am Institut für Pharmazeutische Chemie der TU Braunschweig durchgeführt. Verwendet wurde ein Carlo-Erba-Elementar-Analysator mit Wärmeleitfähigkeitsdetektor.

## 9.6 Viskosimetrie

a) wässrig:

Die Viskositäten der Polyvinylsaccharide wurden mittels eines Kapillarviskosimeter nach UBBELOHDE (Typ Ic, Fa. Schott, Mainz) bei einer Temperatur von 25°C durchgeführt. Für jedes Polymer wurde ausgehend von einer Stammlösung eine Verdünnungsreihe im Konzentrationsbereich 0,1-1% hergestellt und vermessen.

b) in Chloroform:

Die Viskositäten der Polyethersaccharide wurden an einem Kapillarviskosimeter der Firma Lauda, Lauda-Königshofen vom Typ PVS 1 bei 25°C gemessen.

## 9.7 Brechungsindexinkrement

Zur Bestimmung des Brechungsindexinkrementes wird der  $dn$ -Wert gegen die jeweilige Konzentration der Lösung aufgetragen. Aus der Steigung der resultierenden Geraden erhält man nach Multiplikation mit der Kalibrierkonstanten<sup>\*)</sup> das Brechungsindexinkrement  $dn/dc$ .

Verwendet wurde ein Brice-Phoenix-Differentialrefraktometer BP-2000V (Virtis Co., Gardiner New York, USA), das bei einer Wellenlänge von 632,8nm arbeitet. Es wurden bei 25°C Lösungen in bidestilliertem Wasser bzw. 0,1M Natriumsulfat-Lösung vermessen.

<sup>\*)</sup> Quotient aus dem gemessenen  $dn/dc$ -Wert einer wäßrigen KCl-Lösung und dem entsprechenden Literaturwert.

## 9.8 Lichtstreuung

### 9.8.1 Streulichtmessungen im micro-Batchverfahren

Die unterschiedlich konzentrierten staubfreien Polymerlösungen wurden auf eine 10ml Spritze (Fa. Braun) aufgezogen und mittels einer Dosierpumpe kontinuierlich durch die Streulichtküvette des LS-Detektors gepumpt. Die Auswertung der Messungen erfolgte mit der zugehörigen Software (ASTRA 4.20, Fa. Wyatt Technology, Santa Barbara, USA) nach der Methode von ZIMM.

#### Geräte und Meßmethodik:

Photometer:	DAWN DSP Laser-Potometer (Fa. Wyatt Technology, Santa Barbara, USA)
Lichtquelle:	He-Ne-Laser
Primärlicht:	Vertikal linear polarisiert
Wellenlänge:	632,8
Kalibrierung:	Toluol
Dosierpumpe:	Modell A-99 (Fa. Razel Scientific Instruments, Stanford)
Dosiergeschwindigkeit:	1ml/min

### 9.8.2 Streulichtmessungen mit vorgeschalteter SEC

Die Auswertung der SEC-Chromatogramme erfolgte ebenfalls mit der zugehörigen Software (ASTRA 4.20, Fa. Wyatt Technology, Santa Barbara, USA).

**Geräte und Meßmethodik:**

Photometer:	DAWN DSP Laser-Potometer (Fa. Wyatt Technology, Santa Barbara, USA)
Lichtquelle:	He-Ne-Laser
Primärlicht:	Vertikal linear polarisiert
Wellenlänge:	632,8nm
Kalibrierung:	Toluol
SEC-Säulen:	2 x PL aquagel-OH Mixed, 8µm Trennsäulen, 300 x 7,5mm (Fa. Polymer Laboratories, Waltrop)
Laufmittel:	Filtriertes, entgastes Wasser mit 0,02 % Natriumazid
SEC-Pumpe:	L-6000A HPLC-Pumpe ( Fa. Merck-Hitachi, Darmstadt)
Detektor:	Differential Refraktometer R401 (Fa. Waters Associates, Milford)
Dosierschleife:	100µl
Kalibrierung:	Dextran-Strandard 81k (Polymer Laboratories)
Chromatographie- bedingungen:	<ul style="list-style-type: none"><li>• Temperatur: Raumtemperatur</li><li>• Flußrate: 1ml/min</li><li>• Druck: ca. 30bar</li><li>• Probenkonzentration: <math>5 \cdot 10^{-4}</math> - <math>1 \cdot 10^{-3}</math> g/ml</li></ul>

**9.9 Differential Scanning Calorimetry (DSC)**

Die Glasübergangstemperaturen der hergestellten Polymere wurden mit Hilfe des DSC12E der Firma Mettler-Toledo bestimmt. Bei diesem Wärmestrom-DSC wird der Temperaturunterschied zwischen Probe und Referenz als Funktion der Zeit gemessen. Die Kalibrierung der Temperatur und der Wärmestrommessung erfolgt mit Indium, dessen Schmelzpunkt und Schmelzwärme bekannt sind.

Das DSC12E wurde mittels des Programms TA89E vollständig via Computer gesteuert. Die Meßdaten wurden gespeichert und die Kurven online dargestellt, wobei das Signal U in µV direkt in mW übertragen wurde.



**Temperatur:**

Erfassung:	Meßfühler Pt100
Bereich:	-40 bis +400°C
Genauigkeit:	$\pm 0,4^\circ\text{C}$
Reproduzierbarkeit:	$0,1^\circ\text{C}$
Auflösung:	$0,1^\circ\text{C}$
Markierung:	Jedes Grad (Heizrate $\leq 5^\circ\text{C}/\text{min}$ ) Jedes zehnte Grad (Heizrate $> 5^\circ\text{C}/\text{min}$ )

**Ofen:**

	Aluminium; bifilar gewickelte Heizung
Heizrate:	1-20°C/min (nur ganze Zahlen)
Isotherme Zeit:	0-99min (nur ganze Zahlen)

**Sensor:**

	Chromel-Konstanten
Thermometrische Empfindlichkeit:	$56\mu\text{V}/^\circ\text{C}$
Kalorimetrische Empfindlichkeit:	ca. $3\mu\text{V}/\text{mW}$
Rauschen:	$< 60\text{nV}$ ( $< 20\mu\text{W}$ ) peak zu peak, $100^\circ\text{C}$
Signal-Zeitkonstante:	ca. 3s
Drift der Basislinie:	$50\text{-}400^\circ\text{C}$
Reproduzierbarkeit der Basislinie:	$< 3\mu\text{V}$ ( $< 1\text{mW}$ )

**Atmosphäre der Meßzelle:** Stickstoff

**Tiegel:** Aluminium, 40 $\mu\text{l}$  Nutzvolumen

Da die Qualität der Messung stark vom Temperaturgefälle innerhalb der Probe abhängt, müssen folgende Parameter berücksichtigt werden. Das Gewicht der Probe darf nicht zu groß und die Heizrate sollte möglichst klein sein. Der thermische Kontakt zwischen Probe und Tiegel einerseits, sowie zwischen Tiegel und Sensor andererseits muß möglichst gut sein. Sehr gute Ergebnisse werden mit Probengewichten um die 8mg und einer Heizrate von unter  $10^\circ\text{C}/\text{min}$  erzielt.

Als Referenzprobe wurde ein leerer Aluminiumtiegel verwendet.

Die Proben wurden einem Temperaturprogramm unterworfen, um das in den Polymeren vorhandene Wasser vor der eigentlichen Messung zu entfernen, da dies die Messung beeinträchtigen würde:

- 40°C-160°C, Heizrate 5°C/min
- -20°C, 30min, isotherm
- -20°C-200°C, Heizrate 5°C/min

Die Kurven wurden gemäß ICTA (International Confederation for Thermal Analysis) dargestellt (endotherme Reaktionen werden nach unten aufgezeichnet) und sind im Anhang aufgeführt. Die Glasübergangstemperaturen wurden nach der Half-Height-Methode gemäß ASTM D3418 bestimmt<sup>102</sup>.

## 9.10 Biologische Abbaubarkeit

### Zahn-Wellens-Verfahren (DIN EN 29 888):

#### *Reagenzien:*

- Entionisiertes Wasser mit einer DOC-Massenkonzentration von weniger als 2mg/l
- Lösung a):

$\text{KH}_2\text{PO}_4$	8,5g
$\text{K}_2\text{HPO}_4$	21,75g
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	33,4g
$\text{NH}_4\text{Cl}$	0,5g

Auf 1000ml auffüllen.  
Der pH-Wert dieser Lösung sollte etwa 7,4 betragen.
- Lösung b):

$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	22,5g
-------------------------------------------	-------

Auf 1000ml auffüllen.
- Lösung c):

$\text{CaCl}_2$	27,5g
-----------------	-------

Auf 1000ml auffüllen.
- Lösung d):

$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,25g
-------------------------------------------	-------

Auf 1000ml auffüllen.

#### *Herstellung der Testmedien:*

Für 1 Liter Testmedium werden zu etwa 500ml Wasser 10ml Lösung a) und je 1ml der Lösungen b) bis d) hinzugefügt. Die Substanzkonzentration wird so gewählt, daß die Anfangskonzentration des Chemischen Sauerstoffbedarfs zwischen 100 bis 1000mg/l liegt. Anschließend wird mit Wasser auf 1000ml aufgefüllt und der pH-Wert auf  $7 \pm 0,5$  eingestellt.

*Herstellung der Referenzlösung:*

3g einer bekannten, wasserlöslichen organischen Substanz (in diesem Versuch Natriumacetat) werden in 1 Liter Wasser gelöst.

*Herstellung des Inokulums:*

Es wird eine Belebtschlammprobe aus dem Belebungsbecken einer biologischen Abwasserreinigungsanlage (Klärwerk Braunschweig-Watenbüttel) entnommen. Die Probe wird gut durchmischt und der Belebtschlamm durch wiederholte Zugabe von Leitungswasser, Absetzen und Dekantieren gewaschen. Vor Gebrauch wird die Konzentration an suspendierten Stoffen bestimmt. Die Schlammkonzentration muß an die Anfangskonzentration der Testsubstanz angepaßt werden (0,2g/l bis 1,0g/l). Falls erforderlich, wird der Schlamm durch Absetzen aufkonzentriert. Bis zur Verwendung muß das Inokulum bei Raumtemperatur belüftet werden.

*Durchführung des Tests:*

In das Inkubationsgefäß, eine 1-Liter-Glasflasche mit Stopfen, Gaseinleitungsrohr und Gasauslaß, wird das Testmedium gefüllt und die entsprechende Menge an Belebtschlamm zugegeben. Der Blindwertansatz enthält dieselbe Konzentration an Belebtschlamm, aber keine Testsubstanz. Um die Aktivität des Inokulums zu testen, wird noch ein Kontrollansatz mit der Referenzlösung hergestellt.

Die Ansätze werden mittels eines Magnetrührers durchmischt und mit wasserdampf-gesättigter Luft belüftet. Es muß dabei sichergestellt werden, daß der Schlamm gut belüftet wird und sich nicht absetzt. Die Inkubation erfolgt im Dunkeln bei Raumtemperatur.

Um die Wasserverluste durch Verdunstung auszugleichen, werden die Gefäße vor jeder Probenentnahme gewogen und falls nötig mit Wasser auf den Wert der vorausgegangenen Probennahme eingestellt.

Die erste Probenentnahme erfolgt drei Stunden nach Testbeginn, um Adsorptionseffekte zu minimieren. Die Proben werden durch Membranfilter (0,45µm) filtriert und bis zur CSB-Messung nach Dr. Lange bzw. der TOC-Messung mittels Wasseranalysator Dimatoc 100 bei -18°C tiefgefroren.

**CSB-Messung nach Dr. Bruno Lange:**

Kolorimetrische Bestimmung mittels ISIS 9000, Multi Dioden Array Photometer mit Referenzstrahlengang (RST-Technik) und

- a) für Blindproben: Küvetten LCK314 (15-150mg/l Sauerstoff)
- b) für Polymerproben: Küvetten LCK 514 (100-2000mg/l Sauerstoff)

**Wasseranalysator Dimatoc 100:**

Gase:	synthetische Luft, CO <sub>2</sub> und KW-frei, technisch
Probenvolumen:	100µl
Temperatur:	TC/TOC-Messung: 850°C

Meßprinzip: Es handelt sich um die thermisch-katalytische Oxidation von kohlenstoffhaltigen Verbindungen und die anschließende Detektion des dabei entstandenen Kohlenstoffdioxides. Bei der Detektionseinheit handelt es sich um einen Infrarot-Detektor, der nach dem sog. Interferenzfilter-Korrelations-Verfahren arbeitet. Die Konversionsraten gegenüber schweroxidierbaren Substanzen (z.B. Nicotinsäure, Glycin etc.) und leichtflüchtigen Substanzen (z.B. Ethanol, Chloroform etc.) liegen, bezogen auf Kalium-Hydrogen-Phthalat KHP als Eichsubstanz, im Bereich zwischen 93 und 103%. Der in den Proben enthaltene anorganische Kohlenstoff (Carbonate, Bicarbonate, gelöstes Kohlendioxid etc.) wird bei der Oxidation zusammen mit dem TOC erfaßt und ergibt als Meßergebnis den TC-Wert. Um eine Differenzierung der einzelnen Kohlenstoff-Gruppen zu erreichen, kann der TIC-Gehalt durch Austreiben im sauren Milieu bestimmt werden. Bei Temperaturen von 800 bis 900°C wird der TC- bzw. TOC-Wert bestimmt, bei 160°C erfolgt die Bestimmung des TIC-Wertes.

## **9.11 Immunologie**

### **9.11.1 Toxische Effekte bioaktiver Polymere auf humane Immunzellen**

Jedes Polymer wurde in drei voneinander unabhängigen Testansätzen mit jeweils dreifacher interner Replikation (n=9) geprüft. Dabei kamen jeweils acht Konzentrationsstufen pro Polymer zur Anwendung.

Die Immunzellen wurden in Gegenwart der Testsubstanzen über einen Zeitraum von drei Tagen unter Standardbedingungen kultiviert. Als Kontrolle diente jeweils eine Serie von Vergleichsansätzen ohne Zusatz der Testsubstanzen zu den Zellkulturmedien. Als Konzentrationsbereich wurden 0 bis 5mg/ml gewählt. Nach 24 und 72 Stunden wurden die Toxizitätsassays durchgeführt.

### **9.11.2 Einfluß der Polymere auf die funktionelle Aktivität von Lymphozyten**

Isolierte mononukleäre Zellen des peripheren Blutes (PBMC) gesunder Spender wurden mit den Testsubstanzen für 16 Stunden inkubiert. In parallelen Versuchsansätzen wurden diese Zellen zusätzlich unspezifisch durch die Koinkubation mit einem Mitogen (Phytohämagglutinin: T-Lymphozyten; Pokeweed Mitogen: B-(und T-)Lymphozyten) aktiviert.

Anschließend wurde durchflußzytometrisch der Anteil der aktivierten T-Lymphozyten (CD3/CD69-exprimierend) bezogen auf alle T-Lymphozyten (CD3-exprimierend) und

der Anteil der aktivierten B-Lymphozyten (CD19/CD69-exprimierend) bezogen auf alle B-Lymphozyten (CD19-exprimierend) bestimmt.

Als Kontrolle dienten aktivierte bzw. nicht aktivierte Zellkulturen, welche ohne Testsubstanz über einen identischen Zeitraum inkubiert wurden.

Es wurde zum Teil ein zweistufiges Vorgehen gewählt, bei dem PBMC zuerst mit einer Konzentration der Testsubstanzen inkubiert und vermessen wurden. Zeigte sich ein Einfluß dieser Substanzen auf den Aktivierungsstatus der Zellen, wurde dieser in einem breiten Konzentrationsbereich evaluiert. Alle Versuchansätze wurden dreifach in unabhängigen Experimenten wiederholt.

Die Durchflußzytometrie wurde mittels eines FACSCalibur der Firma Becton Dickinson Immunocytometry Systems durchgeführt.

## 10 Literaturverzeichnis

- 
- <sup>1</sup> Lichtenthaler FW: Carbohydrates as Organic Raw Materials, VCH Verlagsges., Weinheim/New York, (1991): 350ff
- <sup>2</sup> Rademacher TW, Parekh RB, Dwek RA: Ann. Rev. Biochem. 57 (1988): 785
- <sup>3</sup> Hakomori SI: Ann. Rev. Biochem. 50 (1981): 733
- <sup>4</sup> Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten, Referat Öffentlichkeitsarbeit (Hrsg.): Nachwachsende Rohstoffe – Konzept der Bundesregierung zur Förderung von Forschungs-, Entwicklungs- und Demonstrationsvorhaben 1996-2000, Mitteldeutsche Druckanstalt Heidenau GmbH 1996
- <sup>5</sup> Woelk HU: Nachr. Chem. Tech. Lab., 30 (1982): 204
- <sup>6</sup> World Sugar Research Organisation: Bulletin Nr. 1 (1978)
- <sup>7</sup> Buchholz K, Yaacoub E.-J, Warn S, Skeries B, Wick S, Böker M (invs), DE Patent 1994, 4408391.2
- <sup>8</sup> Emmerling WN, Pfannemüller B: Makromol. Chem. 148 (1983): 1441
- <sup>9</sup> Wulff G, Clarkson G: Carbohydrate Res. 257 (1994): 81-95
- <sup>10</sup> Ritter H, Noll O: Macromol. Rapid Commun., 17 (1996): 553-557
- <sup>11</sup> Kobayashi K, Kakishita N: Makromol. Chem. Rapid Commun. 14 (1993): 293-302
- <sup>12</sup> Paulsen H, Höffgen EC: Liebigs Ann. Chem. (1993): 543-550
- <sup>13</sup> Whitesides GM et.al: J. Am. Chem. Soc. 113 (1991): 686-687
- <sup>14</sup> Gruber H et.al: GIT Fachz. Lab. (1996): 892-895
- <sup>15</sup> Pichot C et.al: Macromol. Chem. Phys. 197 (1996): 3711-3728
- <sup>16</sup> Roy R et.al: Carbohydrate Research 177 (1988): C1-C4
- <sup>17</sup> Callstrom MR et.al: Chem. Abstr. 25 (1996): P336671t
- <sup>18</sup> Whistler RL, Panzer HP, Roberts HJ: J.Org. Chem. 26 (1961): 1583
- <sup>19</sup> Herzog D: Dissertation TU-Braunschweig (1985)
- <sup>20</sup> Klein J, Herzog D: Makromol. Chem. 188 (1987): 1217
- <sup>21</sup> Haji Begli A: Dissertation TU-Braunschweig (1988)
- <sup>22</sup> Klein J, Haji Begli A.: Makromol. Chem. 190 (1989): 2527
- <sup>23</sup> Engelke S: Dissertation TU-Braunschweig (1989)
- <sup>24</sup> Klein J, Haji Begli A, Engelke S.: Makromol Chem., Rapid Commun. 10 (1989): 629
- <sup>25</sup> Kowalczyk J.: Dissertation TU-Braunschweig (1991)
- <sup>26</sup> Strampe S: Diplomarbeit TU-Braunschweig (1995)
- <sup>27</sup> Strampe S: Dissertation TU-Braunschweig (2000)
- <sup>28</sup> Koblitz V: Diplomarbeit TU-Braunschweig (1996)
- <sup>29</sup> Wiegand A: Diplomarbeit TU-Braunschweig (1997)
- <sup>30</sup> Kühlmeier C: Diplomarbeit TU-Braunschweig (1997)
- <sup>31</sup> Hüttermann C: Diplomarbeit TU-Braunschweig (1999)
- <sup>32</sup> Schwarz S: Diplomarbeit TU-Braunschweig (2000)
- <sup>33</sup> Spaltenstein A, Whitesides GM: J. Am. Chem. Soc. 113 (1991): 686f.
- <sup>34</sup> Sparks MA, Williams KW, Whitesides GM: J. Med. Chem. 36 (1994): 778-783
- <sup>35</sup> Sauter NK, Bednarski MD, Wurzburg BA, Hanson JE, Whitesides GM, Skehel JJ, Wiley DC: Biochemistry 28 (1989): 8388-8396
- <sup>36</sup> Chaiken IM: J. Chromatogr. 376 (1986): 11-32
- <sup>37</sup> Pritchett TJ, Paulson JC: J. Biol. Chem. 264 (1989): 9850-9858
- <sup>38</sup> Rogers GN, Pritchett TJ, Laue JL, Paulson JC: Virology 131 (1983): 394-408
- <sup>39</sup> Roy R, Laferrière CA: Carbohydr. Res. 177 (1988): C1-C4
- <sup>40</sup> Roy R, Laferrière CA: Can. J. Chem. 68 (1990): 2045-2054
- <sup>41</sup> Roy R, Laferrière CA, Gamian A, Jennings HJ: J. Carbohydr. Chem. 6 (1987): 161-165
- <sup>42</sup> Gamian A, Chomik M, Laferrière CA, Roy R: Can. J. Microbiol. 37 (1991): 233-237
- <sup>43</sup> Breslow DS: Pure Appl. Chem. 46 (1976): 103-113
- <sup>44</sup> De Maeyer E, De Maeyer-Guinard J: Interferons and other regulatory cytokines, Wiley, New York (1988): 39-66
- <sup>45</sup> Roy R, Andersson FO, Harms G, Kelm S, Schauer R: Angew. Chem. 104 (1992): 1551-1554
- <sup>46</sup> Roy R: Glycoconjugate J. 5 (1988): 203
- <sup>47</sup> Koyama: Polym. J. 18 (1986): 479
- <sup>48</sup> Lee YC: "Carbohydrate Recognition in Cellular Function", Wiley, Chichester (1989): 80 (Chiba Foundation Symp. 145)

- 
- <sup>49</sup> Kochetkov NK: Pure&Appl. Chem. 56(7) (1984): 923-938
- <sup>50</sup> Beuveri EC, van Rossum F, Nagel J: Infect. Immun. 37 (1982): 15-22
- <sup>51</sup> Kallin E, Lönn H, Norberg T, Elofsson M: J. Carbohydrate Chemistry 8(4) (1989): 597-611
- <sup>52</sup> Chernyak AY, Levinsky AB, Dmitriev BA, Kochetkov NK: Carbohydrate Research 128 (1984): 269-282
- <sup>53</sup> Kochetkov NK, Dmitriev BA, Chernyak AY, Levinsky AB: Carbohydrate Research 110 (1982): C16-C20
- <sup>54</sup> Wiseman A (Ed.): Topics in Enzyme and Fermentation Biotechnology, Ellis Horwood, Chichester (1977ff)
- <sup>55</sup> Kobayashi J: Polym. J. 17 (1985): 567
- <sup>56</sup> Kobayashi J: Bioactive Compatible Polym. 7 (1992): 337
- <sup>57</sup> Nakamura T: Seikagaku 57 (1985): 425
- <sup>58</sup> Rojkind M, Gatmaitan Z, Mackensen S, Giambrone MA, Ponce P, Reid LM: J. Cell Biol. 87 (1980): 255
- <sup>59</sup> Ashwell G, Morell AG: Trends Biochem. Sci. 2 (1977): 76
- <sup>60</sup> Lee YC et al: J. Biol. Chem. 254 (1979): 10830
- <sup>61</sup> Weigel PH, Schnarr RL, Kohlenschmidt MS, Schmel E, Lee RT, Lee YC, Roseman S: J. Biol. Chem. 254 (1979): 10830-10838
- <sup>62</sup> Nishimura SI et al: Macromolecules 24 (1991): 4236-4241
- <sup>63</sup> Kobayashi A, Akaike T: Makromol. Chem., Rapid Commun. 7 (1986): 645-650
- <sup>64</sup> Kobayashi K, Kakishita N, Okada M: Makromol. Chem., Rapid Commun. 14 (1993): 293-302
- <sup>65</sup> Breslow DS: Pure Appl. Chem. 46103 (1976)
- <sup>66</sup> Linhardt RJ, Loganathan D. in: Biomimetic Polymers (C.G. Gebelein, Ed.) 135-175, Plenum Press, New York (1990)
- <sup>67</sup> a) Schmidt RR, Stumpp M: Liebigs Ann. Chem. 680 (1984)  
b) Schmidt RR, Gaden H, Jatzke H: Tetrahedron Lett. 31 (1990): 327
- <sup>68</sup> Jaques LB: Science 206 (1979): 528
- <sup>69</sup> Ham GE: Copolymerization, High Polymers 18, Interscience Publishers, New York (1964)
- <sup>70</sup> Ring W: Makromol. Chem. 101 (1967): 145
- <sup>71</sup> Elias HG: Makromoleküle, Hühthig u. Wepf, 5.Auflage, Bd.1, Basel/ Heidelberg/ New York (1990) 512-550
- <sup>72</sup> Vollmert B: Grundriss der Makromolekularen Chemie, 1.Auflage, Bd.1, E. Vollmert-Verlag, Karlsruhe (1988)
- <sup>73</sup> Skeries B: Dissertation, TU Braunschweig (1999)
- <sup>74</sup> Fineman M, Ross SD: J. Polym. Sci. 5 (1950): 259
- <sup>75</sup> Kelen T, Tüdös F: J. Macromol. Sci.-Chem. A9 (1975): 365
- <sup>76</sup> Odian G: Principles of polymerisation, 2<sup>nd</sup> Ed., Wiley, New York (1981)
- <sup>77</sup> Billingham NC: Recent Developments in Ring-Opening Polymerization, Chap. 4 in: Developments in Polymerization-1, Haward RN (Ed.), Applied Science Publishers, London (1979)
- <sup>78</sup> Saegusa T, Goethals E (Eds.): Ring-Opening Polymerization, American Chemical Society, Washington (1977)
- <sup>79</sup> a) Dainton FS, Ivin KJ: Q. Rev. (London) 12 (1958): 61  
b) Finke HL, Scott DW, Gross ME, Waddington G: J.Am. Chem.Soc., 78 (1956): 5469  
c) Cubbon RCP: Makromol. Chem. 80 (1964): 44
- <sup>80</sup> Sawada H.: Thermodynamics of Polymerization, Chap.7, Marcel Dekker, New York (1976)
- <sup>81</sup> Sogo K, Hattori I, Ikeda S, Kambara S: Makromol. Chem. 179 (1978): 2559
- <sup>82</sup> Clinton N, Matlock P: Encyclopedia of polymer science and engineering, 2<sup>nd</sup> Ed., Vol. 6 (1986)
- <sup>83</sup> Saegusa T, Kobayashi S: Cationic Ring-Opening Polymerization of Cyclic Ethers, in: Progress in Polymer Science Japan, Vol.6, Onogi S, Uno K (Eds.), Halsted Press, (Wiley), New York (1973)
- <sup>84</sup> Jedlinski Z, Dworak A, Bero M: Makromol. Chem. 180 (1979): 949
- <sup>85</sup> Bojtech B: Makromol. Chem. 66 (1966): 180
- <sup>86</sup> Pruckmayr G, Wu TK: Macromolecules 11 (1978): 265, 662.
- <sup>87</sup> Huguet J, Vert M, Reix M, Sepuchre M, Spassky N: Polymer 20 (1979): 961
- <sup>88</sup> Saegusa T, Motoi M, Suda H: Macromolecules 9 (1976): 231
- <sup>89</sup> Goethals EJ: Adv. Polym. Sci. 23 (1977): 103
- <sup>90</sup> Bucquoye M, Goethals EJ: Makromol. Chem. 179 (1978): 168
- <sup>91</sup> Penczek I, Sazanov YN, Penczek S: Makromol. Chem. 100 (1967): 156
- <sup>92</sup> Kulicke WM: Fließverhalten von Stoffen und Stoffgemischen, Hühthig und Wepf, Basel/ Heidelberg/ New York (1986)
- <sup>93</sup> Tieke B: Makromolekulare Chemie, VCH, Weinheim (1997)
- <sup>94</sup> Elias HG: Makromoleküle, 5. Auflage, Bd.1, Hühthig und Wepf, Basel/ Heidelberg/ New York (1990)
- <sup>95</sup> Vollmert B: Grundriss der Makromolekularen Chemie, E. Vollmer-Verlag, Karlsruhe (1980)
- <sup>96</sup> Guderjahn L: Dissertation, TU Braunschweig (1995)
- <sup>97</sup> Strampe S: Dissertation TU Braunschweig (2000)
- <sup>98</sup> Klein J, Kulicke WM, Hollmann J, in: Analytiker Taschenbuch, Kap. 3, Günzler H, Bahadir M, Danzer K, Engewald W, Fresenius W, Galensa R, Huber W, Linscheid M, Schwedt G, Tölg G (Hrsg.),

- Springer, Berlin/ Heidelberg/ New York (1998)
- <sup>99</sup> Tieke B: Makromolekulare Chemie, 1. Aufl., VCH, Weinheim (1997), S.224
- <sup>100</sup> Wyatt Technology: Einführung in die Grundlagen der Lichtstreuung am Beispiel des DAWN DSP
- <sup>101</sup> DIN 51 005: Thermische Analyse (TA), Begriffe
- <sup>102</sup> Mettler-Toledo AG: Bedienungsanleitung für das TA Instrument DSC 12E (1990)
- <sup>103</sup> Vollmert B: Grundriss der Makromolekularen Chemie, Band 4, E. Vollmert-Verlag, Karlsruhe (1988)
- <sup>104</sup> Elias HG: Makromoleküle, 5. Aufl., Band 1 (Grundlagen: Struktur-Synthese-Eigenschaften), Hüthig & Wepf-Verlag, Heidelberg (1990)
- <sup>105</sup> Falbe J, Regitz M (Hrsg.): Römpp-Chemielexikon, 9. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart/ New York (1989)
- <sup>106</sup> Mettler-Toledo AG: Bedienungsanleitung für Software TA89A (1995)
- <sup>107</sup> Schnabel W: Polymer Degradation (Principles and Practical Applications), Hanser International, Wien (1981)
- <sup>108</sup> Huang SJ: Biodegradation, Comprehensive Polym. Sci. 6, S.597
- <sup>109</sup> Witt U: Dissertation TU-Braunschweig, Braunschweig (1996)
- <sup>110</sup> Matsumura S, Shimura Y, Toshima K: Macromolecular Chem. Phys. 196 (1995): 3437
- <sup>111</sup> Matsumura S, Ii S, Shigeno H, Tanaka T, Okuda F, Shimura Y, Toshima K: Makromol. Chem. 194 (1993): 3237
- <sup>112</sup> Matsumura S et al.: Makromol. Chem. 194, (1993): 3237-3246
- <sup>113</sup> Koblitz V: Diplomarbeit TU-Braunschweig, Braunschweig (1996)
- <sup>114</sup> DIN 29888, Ersatz für DIN 38412 T25/01.84
- <sup>115</sup> Benjamini E: Immunologie - ein Kurzlehrbuch, Schwer Verlag, Stuttgart (1988)
- <sup>116</sup> Alberts B et al.: Molekularbiologie der Zelle, 1. korrr. Nachdruck der 1. Auflage, VCH-Verlag, Weinheim (1987)
- <sup>117</sup> van den Tweel JG et al.: Immunologie: das menschliche Abwehrsystem, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg (1999)
- <sup>118</sup> Dr. Täger M, IMTM Magdeburg, persönliche Mitteilung, Magdeburg, 2000
- <sup>119</sup> Dr. Täger M: Biokompatibilität von Polymeren, Abschlußbericht, Magdeburg (Juni 1999)
- <sup>120</sup> Flint R B, Salzberg PL: U.S. 2.016.962 (1935), Chem. Abstr., 29 (1935): 8007
- <sup>121</sup> Wayne W, Adkins H: J. Am. Chem. Soc., 79 (1957): 3541
- <sup>122</sup> Kagen F, Rebenstorf MA, Heinzelmann RV: J. Am. Chem. Soc., 79 (1957): 3541
- <sup>123</sup> Long, JW, Bollenback GN: Methods Carbohydrate Chem., 2 (1962): 79
- <sup>124</sup> Limieux RU: U.S. 2.830.983 (1958), Chem. Abstr., 52 (1958): 14668
- <sup>125</sup> Kowalczyk J: Diplomarbeit TU Braunschweig (1988)
- <sup>126</sup> Klein J, Kunz M, Kowalczyk J: Makromol. Chem., 191 (1990): 467
- <sup>127</sup> Pfanz H, Händel KH: Ger. (East) 13746 (1957)
- <sup>128</sup> Dorn H, Welfle H, Liebig R: Chem. Ber., 99 (1966): 812
- <sup>129</sup> Engelke S: Diplomarbeit TU Braunschweig (1985)
- <sup>130</sup> Hüls America: Chem. and. En., 14(1988): 56
- <sup>131</sup> Kelkenberg H: Tenside Surfactants Detergents, 25 (1988): 8
- <sup>132</sup> Engelke S: Dissertation TU Braunschweig (1989)
- <sup>133</sup> Klein J, Haji Begli A, Engelke S: Makromol. Chem., Rapid Commun., 10 (1989): 629
- <sup>134</sup> Haji Begli A: Dissertation TU-Braunschweig (1988)
- <sup>135</sup> a) Buchholz K, Stoppok E, Matalla K, Reh KD, Jördening HJ, in: Lichtenthaler FW (Hrsg.): Carbohydrates as Organic Raw Materials, Verlag Chemie, Weinheim (1991): 155-168  
b) Matalla K: Dissertation, TU Braunschweig (1991)  
c) Stoppok E, Matalla K, Buchholz K: Appl. Microbiol. Biotechnol. (1992): 604-610
- <sup>136</sup> Pietsch M: Dissertation TU Braunschweig (1993)
- <sup>137</sup> Sato M: J.Org.Chem., 26 (1961): 770  
Heinert DH, USP. 3 470 228 (1969), DOW Chemical Co.; C.A. (1969), 71, 112 401 König KH, Reitel, Ch, Mangold D, Feuerherd KH, Oeser HG: Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 18(1979): 319
- <sup>138</sup> König KH: Tetrahedron 46 (1990): 7729
- <sup>139</sup> Biffin MEC, Miller J, Paul DB: Introduction of the Azido Group in S. Patai (The Chemistry of the Azido Group), p.57-190
- <sup>140</sup> Smith PAS, in: Molecular Rearrangements (Ed. P. de Mayo), Interscience, New York (1963): 457
- <sup>141</sup> Jessup PJ, Petty CB, Roos J, ad Overman LE: Organic Synthesis coll. Vol., 1-N-Acylamino-1,3-Dienes by Curtius Rearrangement
- <sup>142</sup> Nelles J, Chem. Ber. 65, (1932): 1345
- <sup>143</sup> Brown M, Benson RE: J. Org. Chem. 56 (1966): 3849
- <sup>144</sup> Kricheldorf HR: Synthesis 551 (1972)
- <sup>145</sup> Olah GA et al.: J.Org.Chem. 55 (1990): 4282



- 
- <sup>146</sup> Hart R: Bull. Soc. Chim. Belg. 65 (1956): 291
- <sup>147</sup> Schwetlick K, Noack R: J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2 (1995) 395
- <sup>148</sup> Houben Weyl: „Methoden der organischen Chemie“, Band VIII, Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1952): 149
- <sup>149</sup> Kowalczyk J: Dissertation TU-Braunschweig (1990)
- <sup>150</sup> Rehm: Industrielle Mikrobiologie, Springer Verlag, Berlin (1980): 266f.
- <sup>151</sup> Rüdiger C: Dissertation Bergische Universität Gesamthochschule Wuppertal (1999)
- <sup>152</sup> Tate BE: Encyclopaedia of Polymer Science and Engineering, 2<sup>nd</sup> Ed., Vol 13, Wiley Interscience, New York (1987): 865-873
- <sup>153</sup> Plank J: CHEManager Spezial, Kunststoff-Forschung Bauchemie 1 (2000): 34-36
- <sup>154</sup> JP08,182,494 [96,182,494]
- <sup>155</sup> Gorcharova LV; Galaev IY; Shumskii VI: Vopr. Med. Khim. 38 (1) (1992): 21-22
- <sup>156</sup> Kirichenko, Izvolenskii, Semchikov: Polymer Science, Ser. B. Vol37 Nos. 11-12 (1995): 1953-1956
- <sup>157</sup> Hüttermann C: Diplomarbeit TU Braunschweig, Braunschweig (1999)
- <sup>158</sup> Adolphi U, Kulicke WM: Polymer 38 (7) (1997): 1513
- <sup>159</sup> Bareiss RE: Chemiker Zeitung 105(4) (1981): 97-103
- <sup>160</sup> Bareiss RE in Polymer Handbook, Brandrup J, Immergut EH (Hrsg), 2. Aufl., Wiley-Interscience, New York (1975): IV-115ff
- <sup>161</sup> Kulicke WM, Kniewske R, Klein J: Prog. Polym. Sci. 8 (1982): 373
- <sup>162</sup> Koblitz V: Diplomarbeit TU-Braunschweig, Braunschweig (1996)
- <sup>163</sup> Inst. für Medizintechnologie Magdeburg GmbH, Leipziger-Str. 44, 39120 Magdeburg
- <sup>164</sup> Wang PG et.al: Current Organic Chemistry 3(3) (1999): 241-267
- <sup>165</sup> Kassab R, Felix C, Parrot-Lopez H, Bonaly R: Tetrahedron Letters 38(43) (1997): 7555-7558
- <sup>166</sup> Kühlmeyer C: Dissertation TU-Braunschweig (2000)
- <sup>167</sup> Lee RT, Lee YC: Carbohydrate Research 37 (1974): 193ff.
- <sup>168</sup> Lehmann J: Kohlenhydrate, Thieme Verlag, Stuttgart (1996): 81
- <sup>169</sup> Schaffner BP, Wehrli H: Helv. Chim. Acta 55 (1972): 2563
- <sup>170</sup> Höfle G, Steglich W, Vorbrüggen H: Angew. Chem. 90 (1978): 602ff.
- <sup>171</sup> Barnett JEG, Ralph A: Carbohydr. Res. 17 (1971): 231ff.
- <sup>172</sup> Bessell EM, Westwood JH: Carbohydr. Res. 25 (1972): 11ff.
- <sup>173</sup> Tsuruta T: Pure and Appl. Chem., 53 (1981): 1745-1751
- <sup>174</sup> Bero M: J. Polymer Science 19 (1982): 191-197
- <sup>175</sup> Price CC, Brecker LR: J. Polymer Science, Part A-1 7 (1969): 575-582
- <sup>176</sup> Bauer RS, Spooner WW: J. Polym. Sci. Part A-1 8 (1970): 2971
- <sup>177</sup> Clinton NP, Matlock P: Encyclopedia of polymer science and engineering, 2<sup>nd</sup> Ed., (1986): 285
- <sup>178</sup> Engelke S: Dissertation TU-Braunschweig (1989)
- <sup>179</sup> Makromol. Chem. Rapid Commun 5 (1984): 489

# 11 Anhang

## 11.1 Berechnung des Einbaus von Monomer1 ins Copolymer

$n_{N,M_1}$  : Zahl der Stickstoffatome im Monomer 1

$n_{C,M_1}$  : Zahl der Kohlenstoffatome im Monomer 1

$n_{N,M_2}$  : Zahl der Stickstoffatome im Monomer 2

$n_{C,M_2}$  : Zahl der Kohlenstoffatome im Monomer 2

$n_{N,g}$  : Zahl der Stickstoffatome im gesamten Polymer

$n_{C,g}$  : Zahl der Kohlenstoffatome im gesamten Polymer

*Gleichung 11-1: Das Verhältnis von Stickstoff zu Kohlenstoff in Monomer 1*

$$V_{M_1} = \frac{n_{N,M_1}}{n_{C,M_1}}$$

*Gleichung 11-2: Das Verhältnis von Stickstoff zu Kohlenstoff in Monomer 2*

$$V_{M_2} = \frac{n_{N,M_2}}{n_{C,M_2}}$$

*Gleichung 11-3: Das Verhältnis von Stickstoff zu Kohlenstoff im Polymer (zugänglich durch Elementaranalyse)*

$$V_P = \frac{n_{N,g}}{n_{C,g}}$$

*Gleichung 11-4: Die Zahl der gesamten Stickstoffatome läßt sich unter Einbeziehung von X (Anteil des Monomers im Polymer) wie folgt ausdrücken*

$$n_{N,g} = n_{N,M_1} * X_{M_1} + n_{N,M_2} * X_{M_2}$$

*Gleichung 11-5: Für die Zahl der gesamten Kohlenstoffatome gilt entsprechend*

$$n_{C,g} = n_{C,M_1} * X_{M_1} + n_{C,M_2} * X_{M_2}$$

*Gleichung 11-6: Nach Umstellen von Gleichung 11-1*

$$n_{N,M_1} = V_{M_1} * n_{C,M_1}$$

*Gleichung 11-7: Nach Umstellen von Gleichung 11-2*

$$n_{N,M_2} = V_{M_2} * n_{C,M_2}$$

*Gleichung 11-8: Durch Einsetzen von Gleichung 11-4 bis Gleichung 11-7 in Gleichung 11-3*

$$V_P = \frac{V_{M_1} * n_{C,M_1} * X_{M_1} + V_{M_2} * n_{C,M_2} * X_{M_2}}{n_{C,M_1} * X_{M_1} + n_{C,M_2} * X_{M_2}}$$

mit

*Gleichung 11-9*

$$a_1 = \frac{n_{C,M_2}}{n_{C,M_1}}, \text{ also } n_{C,M_2} = a_1 * n_{C,M_1}$$

folgt

*Gleichung 11-10*

$$V_P = \frac{V_{M_1} * n_{C,M_1} * X_{M_1} + V_{M_2} * a_1 * n_{C,M_1} * X_{M_2}}{n_{C,M_1} * X_{M_1} + a_1 * n_{C,M_1} * X_{M_2}}$$

und nach Kürzen

*Gleichung 11-11*

$$V_P = \frac{V_{M_1} * X_{M_1} + V_{M_2} * a_1 * X_{M_2}}{X_{M_1} + a_1 * X_{M_2}}$$

*mit*  $X_{M_1} + X_{M_2} = 1$ , *d.h.*  $X_{M_2} = 1 - X_{M_1}$

*Gleichung 11-12*

$$V_P = \frac{V_{M_1} * X_{M_1} + V_{M_2} * a_1 * (1 - X_{M_1})}{X_{M_1} + a_1 * (1 - X_{M_1})}$$

Nach Umformen, zu

*Gleichung 11-13*

$$V_P = \frac{X_{M_1}(V_{M_1} - V_{M_2} * a_1) + a_1 V_{M_2}}{X_{M_1}(1 - a_1) + a_1}$$

umstellen

*Gleichung 11-14*

$$V_P * a_1 + V_P * X_{M_1}(1 - a_1) = X_{M_1}(V_{M_1} - V_{M_2} * a_1) + a_1 V_{M_2}$$

*Gleichung 11-15*

$$V_P * a_1 + V_P * X_{M_1} - V_P * X_{M_1} * a_1 = X_{M_1} * V_{M_1} - X_{M_1} * V_{M_2} * a_1 + a_1 V_{M_2}$$

und zusammenfassen

*Gleichung 11-16*

$$(V_P - V_{M_2}) * a_1 = X_{M_1}(-V_P + V_P * a_1 + V_{M_1} - V_{M_2} * a_1)$$

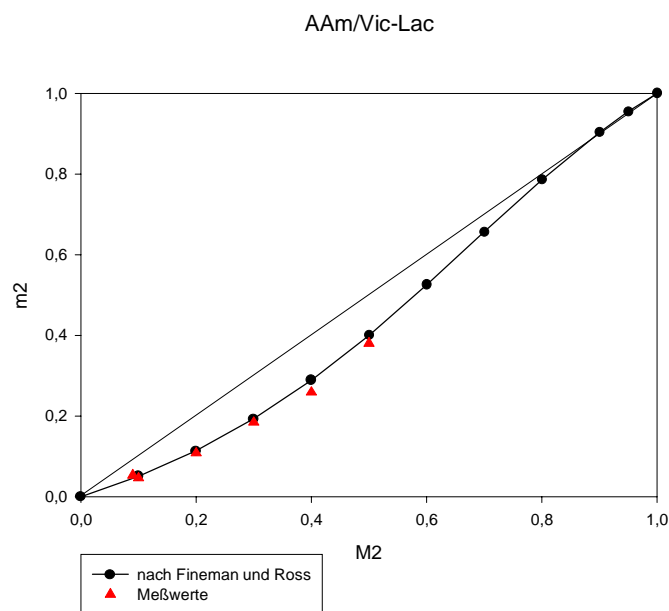
ergibt sich

*Gleichung 11-17: Berechnung des Anteils von Monomer 1 im Copolymer*

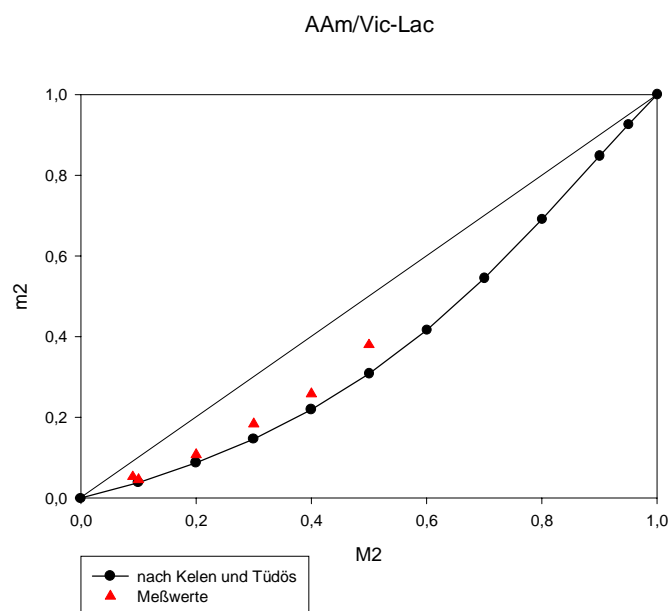
$$X_{M_1} = \frac{(V_P - V_{M_2}) * a_1}{(V_P * a_1 - V_P + V_{M_1} - V_{M_2} * a_1)}$$

## 11.2 Copolymerisationsdiagramme

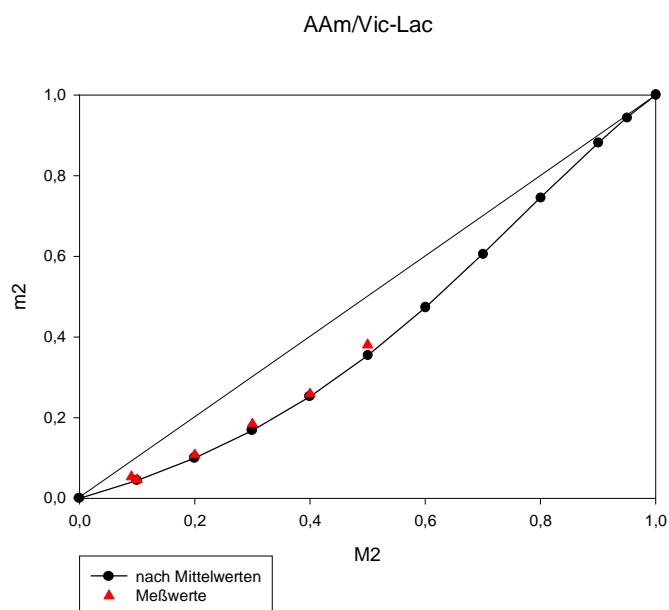
Copolymerisationsdiagramm von AAm und Vic-Lac nach Fineman und Ross:



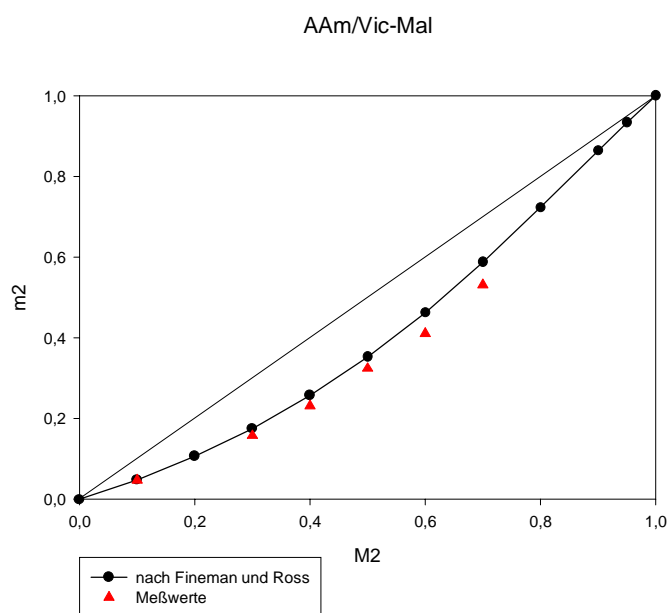
Copolymerisationsdiagramm von AAm und Vic-Lac nach Kelen und Tüdös:



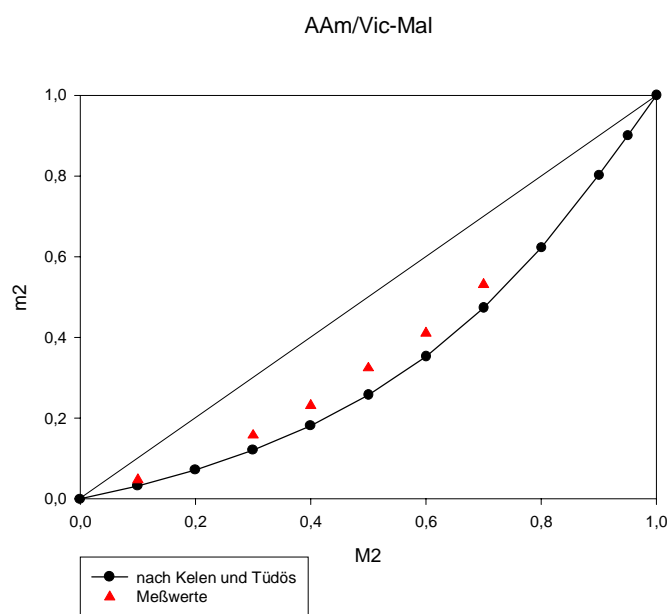
*Copolymerisationsdiagramm von AAm und Vic-Lac nach den Mittelwerten von Fineman und Ross sowie Kelen und Tüdös:*



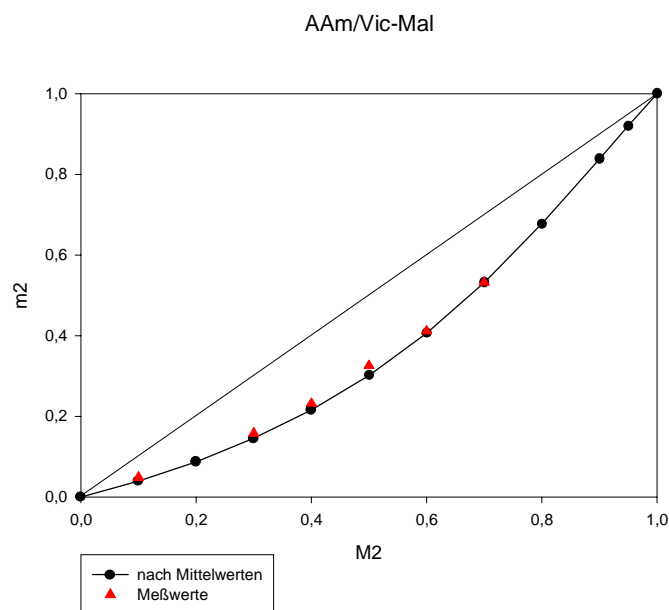
*Copolymerisationsdiagramm von AAm und Vic-Mal nach Fineman und Ross:*



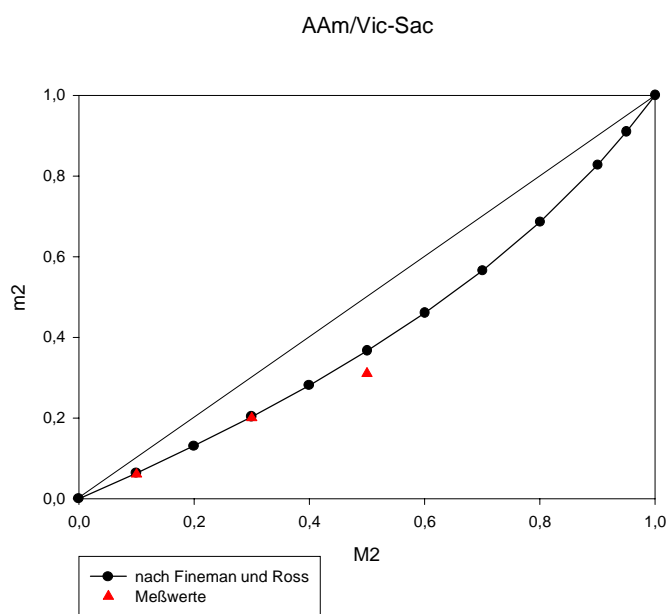
*Copolymerisationsdiagramm von AAm und Vic-Mal nach Kelen und Tüdös:*



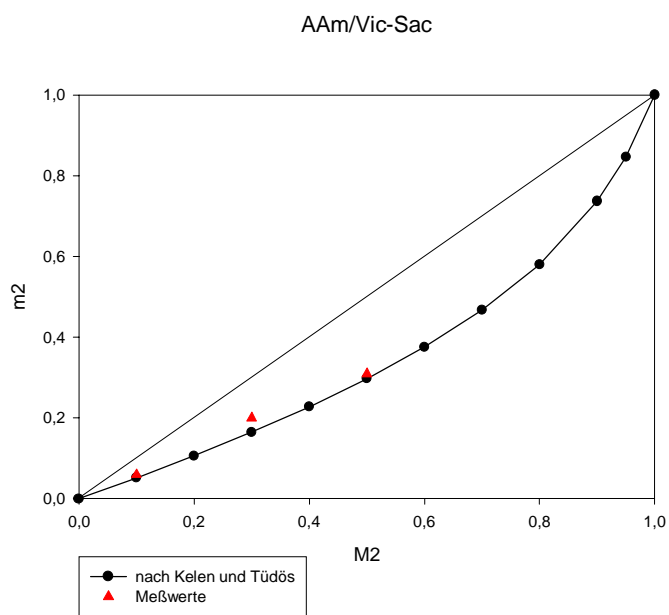
*Copolymerisationsdiagramm von AAm und Vic-Mal nach den Mittelwerten von Fineman und Ross sowie Kelen und Tüdös:*



Copolymerisationsdiagramm von AAm und Vic-Sac nach Fineman und Ross:

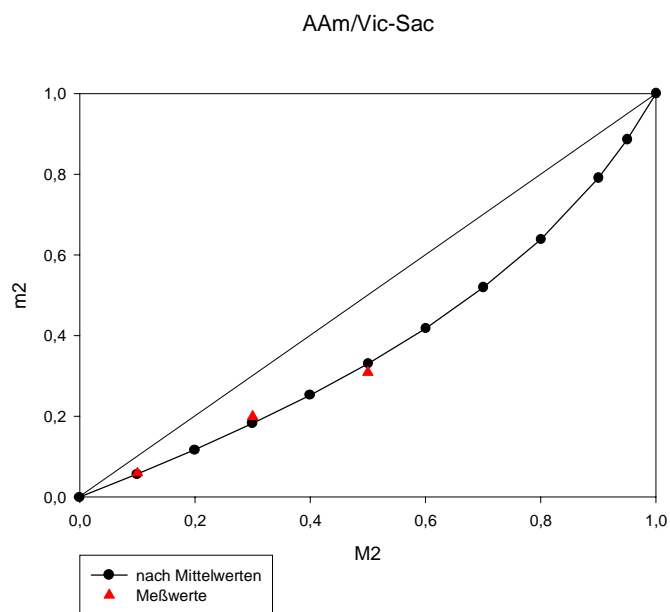


Copolymerisationsdiagramm von AAm und Vic-Sac nach Kelen und Tüdös:

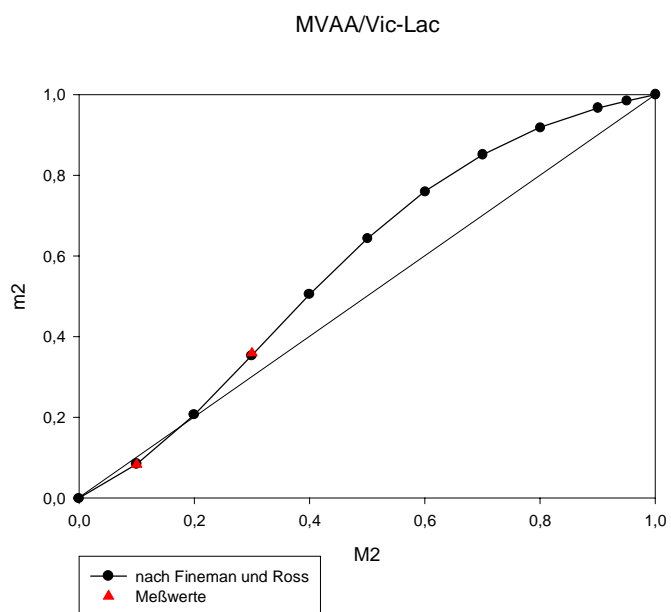




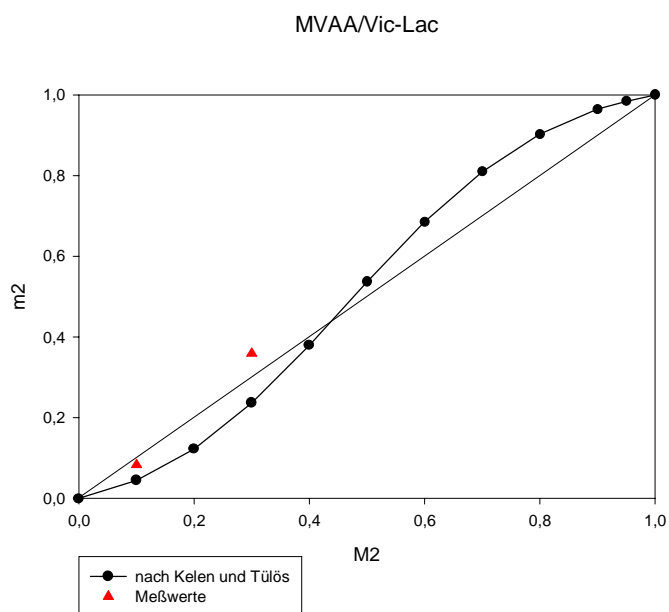
*Copolymerisationsdiagramm von AAm und Vic-Sac nach den Mittelwerten von Fineman und Ross sowie Kelen und Tüdös:*



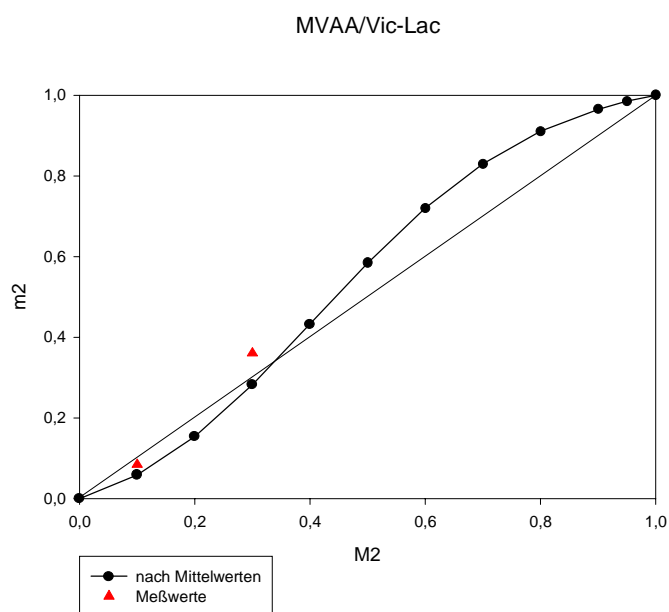
*Copolymerisationsdiagramm von MVAA und Vic-Lac nach Fineman und Ross:*



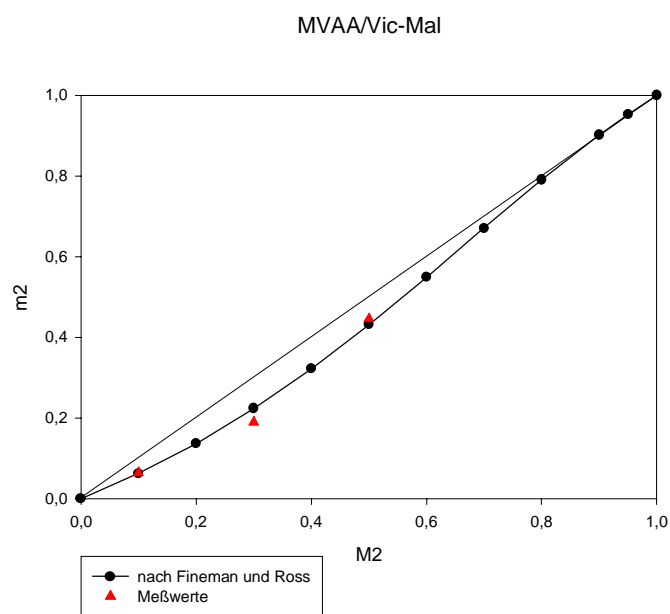
*Copolymerisationsdiagramm von MVAA und Vic-Lac nach Kelen und Tüdös:*



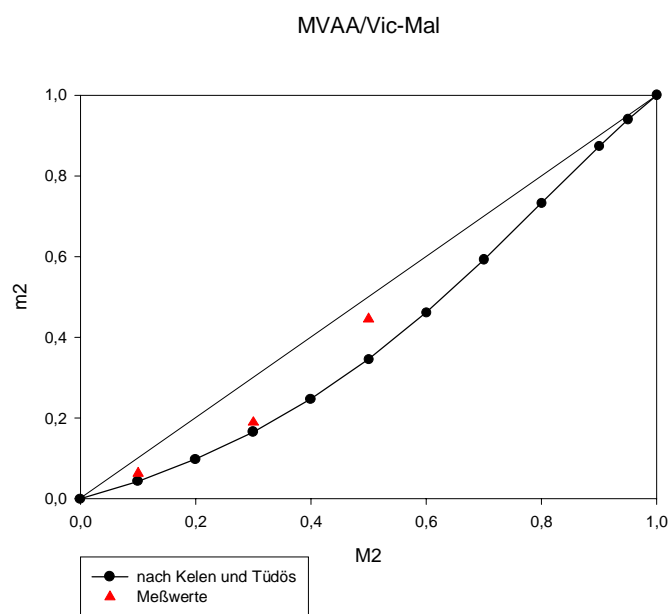
*Copolymerisationsdiagramm von MVAA und Vic-Lac nach den Mittelwerten von Fineman und Ross sowie Kelen und Tüdös:*



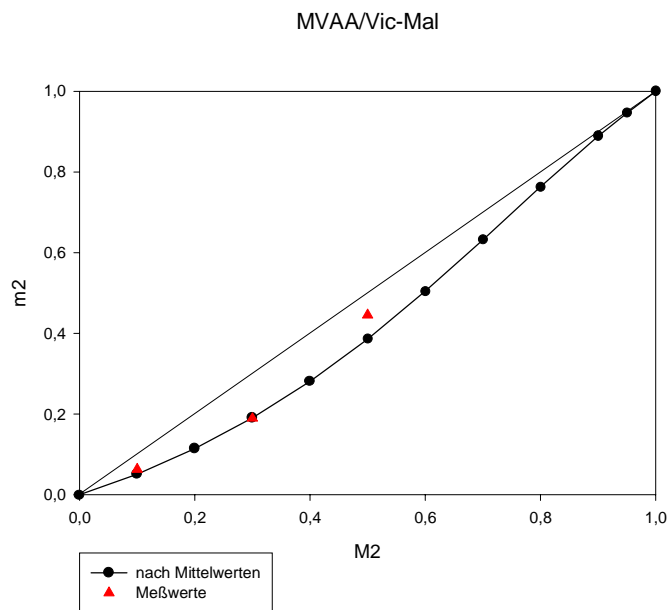
*Copolymerisationsdiagramm von MVAA und Vic-Mal nach Fineman und Ross:*



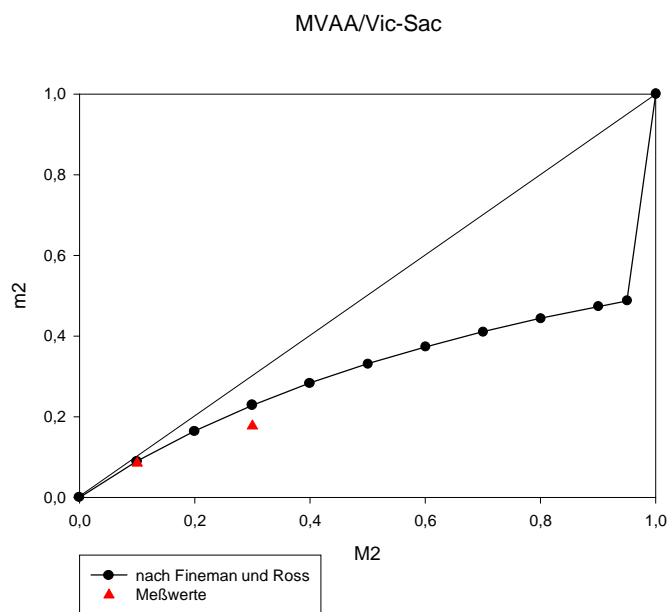
*Copolymerisationsdiagramm von MVAA und Vic-Mal nach Kelen und Tüdös:*



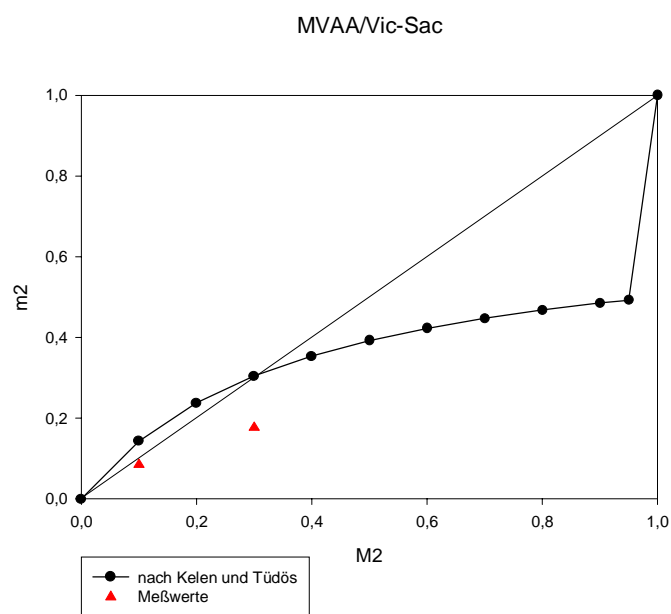
*Copolymerisationsdiagramm von MVAA und Vic-Mal nach Mittelwerten von Fineman und Ross sowie Kelen und Tüdös:*



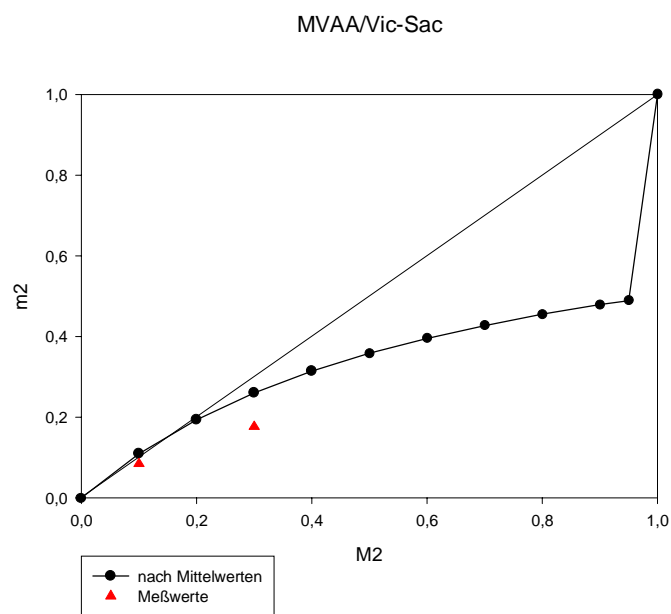
*Copolymerisationsdiagramm von MVAA und Vic-Sac nach Fineman und Ross:*



*Copolymerisationsdiagramm von MVAA und Vic-Sac nach Kelen und Tüdös:*



*Copolymerisationsdiagramm von MVAA und Vic-Sac nach Mittelwerten von Fineman und Ross sowie Kelen und Tüdös:*



### 11.3 Toxische Effekte bioaktiver Polymere auf humane Immunzellen

Abbildung 11-1: Zytotoxizität nach 24h

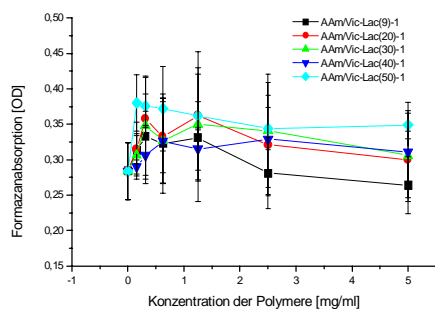
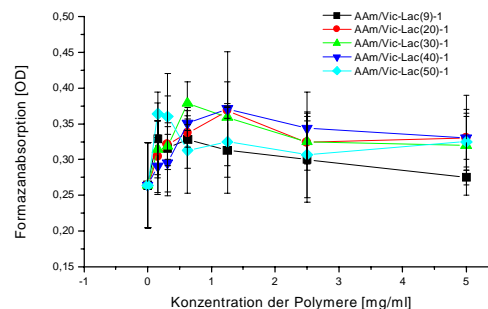


Abbildung 11-2: Zytotoxizität nach 72h



Im untersuchten Konzentrationsbereich wird keine Beeinträchtigung der metabolischen Aktivität durch die Polymerproben festgestellt.

Abbildung 11-3: Zytotoxizität nach 24h

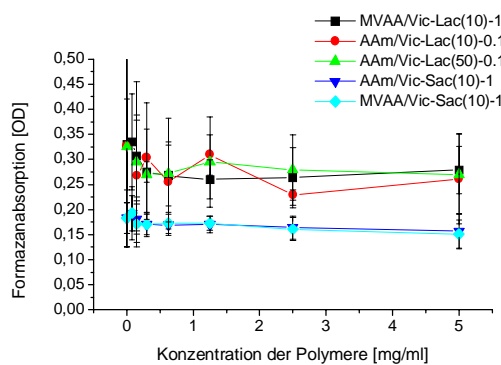
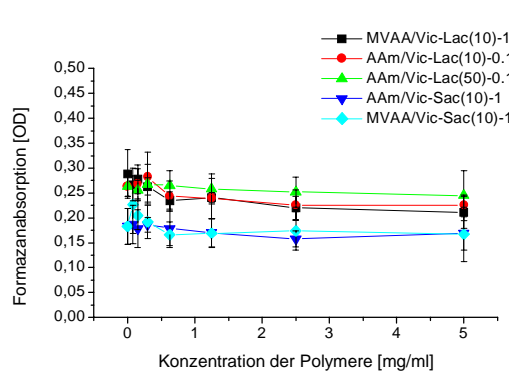


Abbildung 11-4: Zytotoxizität nach 72h



Im untersuchten Konzentrationsbereich wird keine Beeinträchtigung der metabolischen Aktivität durch die Polymerproben festgestellt.

Abbildung 11-5: Zytotoxizität nach 24h

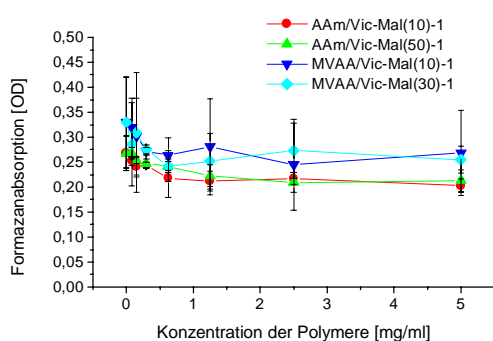
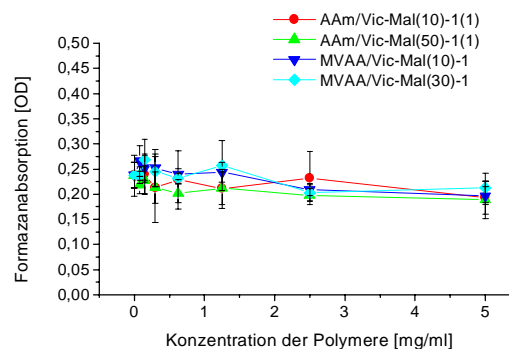


Abbildung 11-6: Zytotoxizität nach 72h



Im untersuchten Konzentrationsbereich wird keine Beeinträchtigung der metabolischen Aktivität durch die Polymerproben festgestellt.

Abbildung 11-7: Zytotoxizität nach 24h

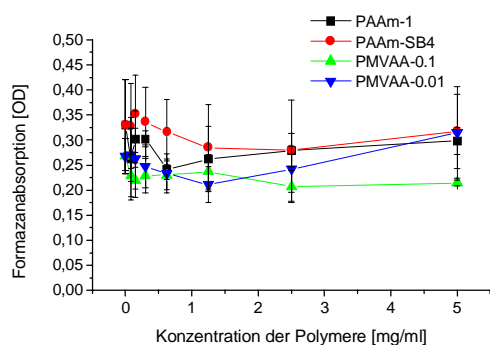
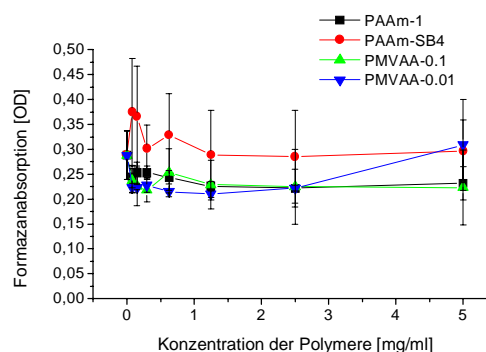


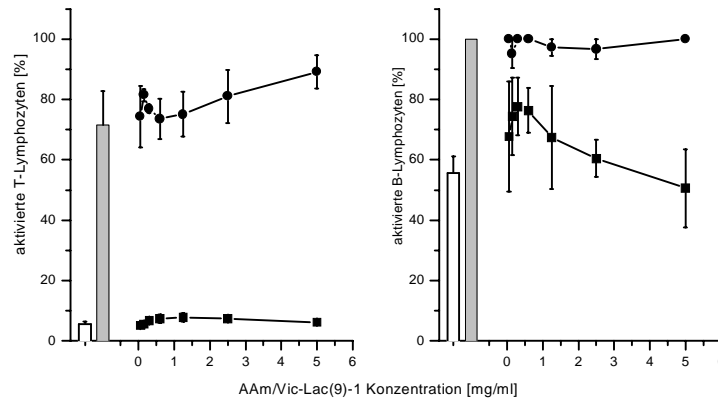
Abbildung 11-8: Zytotoxizität nach 72h



Im untersuchten Konzentrationsbereich wird keine Beeinträchtigung der metabolischen Aktivität durch die Polymerproben festgestellt.

## 11.4 Einfluß der Polymere auf die funktionelle Aktivität von Lymphozyten

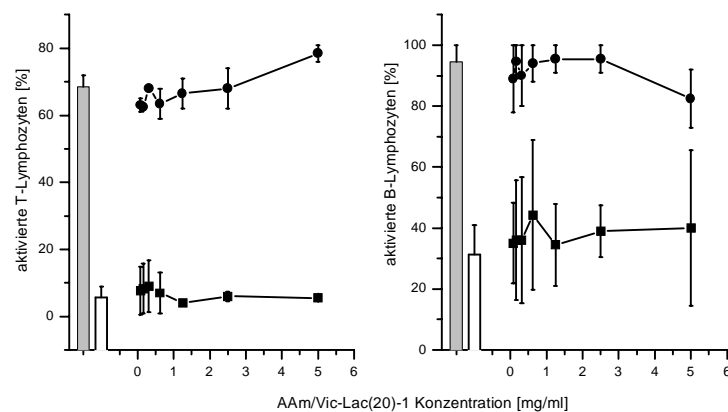
Abbildung 11-9: Konzentrationsabhängige Stimulation der T- und B-Lymphozytenaktivierung durch AAm/Vic-Lac(9)-I



Höhere Konzentrationen (5mg/ml) von AAm/Vic-Lac(9)-1 erhöhen bei Koinkubation mit Phytohämagglutinin den Anteil der aktivierten T-Zellen.

Ohne Phytohämagglutinin führen geringere AAm/Vic-Lac(9)-1-Konzentrationen zu einer statistisch nicht signifikanten Aktivierung der B-Lymphozyten.

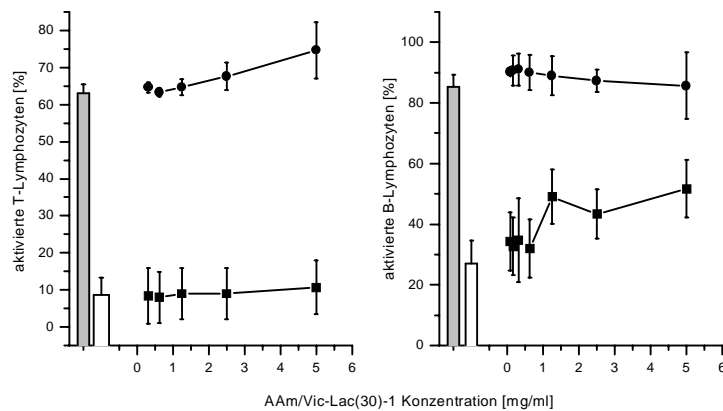
Abbildung 11-10: Konzentrationsabhängige Stimulation der T- und B-Lymphozytenaktivierung durch AAm/Vic-Lac(20)-I



Höhere Konzentrationen (5mg/ml) von AAm/Vic-Lac(20)-1 erhöhen bei Koinkubation mit Phytohämagglutinin den Anteil der aktivierten T-Zellen.



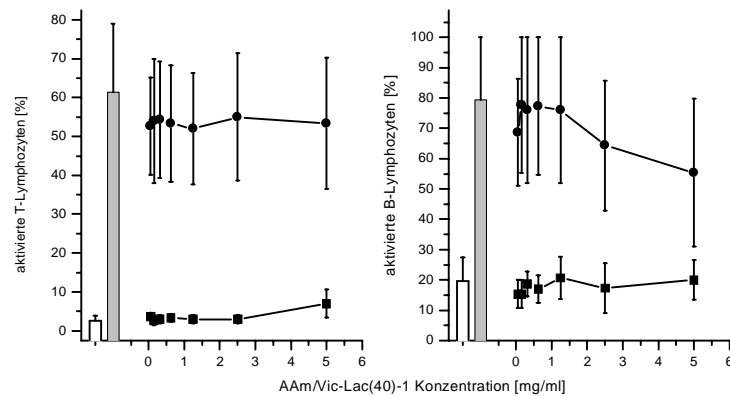
Abbildung 11-11: Konzentrationsabhängige Stimulation der T- und B-Lymphozytenaktivierung durch AAm/Vic-Lac(30)-I



Höhere Konzentrationen (5mg/ml) von AAm/Vic-Lac(30)-1 erhöhen bei Koinkubation mit Phytohämagglutinin den Anteil der aktivierten T-Zellen.

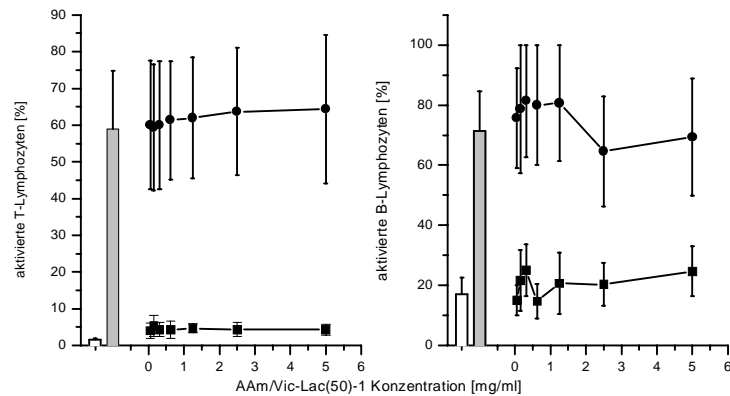
Ohne Phytohämagglutinin führen höhere AAm/Vic-Lac(30)-1-Konzentrationen zu einer statistisch nicht signifikanten Aktivierung der B-Lymphozyten.

Abbildung 11-12: Konzentrationsabhängige Stimulation der T- und B-Lymphozytenaktivierung durch AAm/Vic-Lac(40)-I



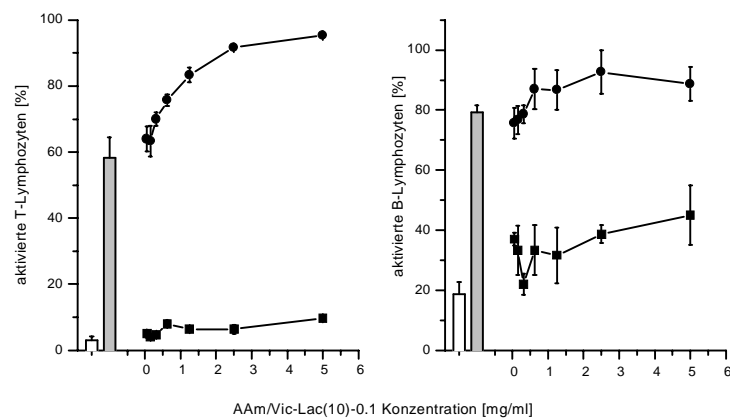
AAm/Vic-Lac(40)-1 beeinflusst die Lymphozytenaktivierung nicht.

Abbildung 11-13: Konzentrationsabhängige Stimulation der T- und B-Lymphozytenaktivierung durch AAm/Vic-Lac(50)-1



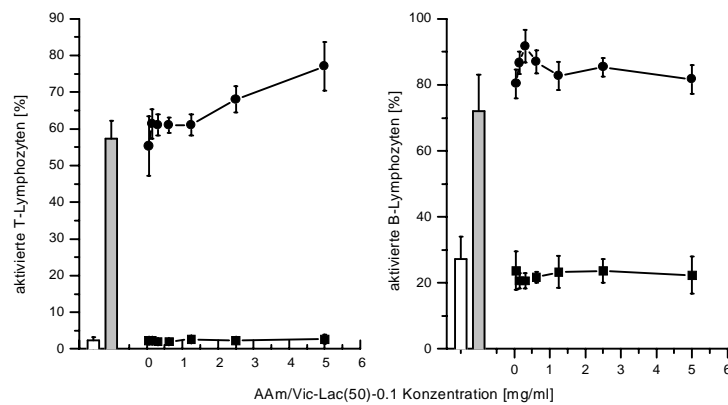
AAm/Vic-Lac(50)-1 beeinflusst die Lymphozytenaktivierung nicht.

Abbildung 11-14: Konzentrationsabhängige Stimulation der T- und B-Lymphozytenaktivierung durch AAm/Vic-Lac(10)-0.1



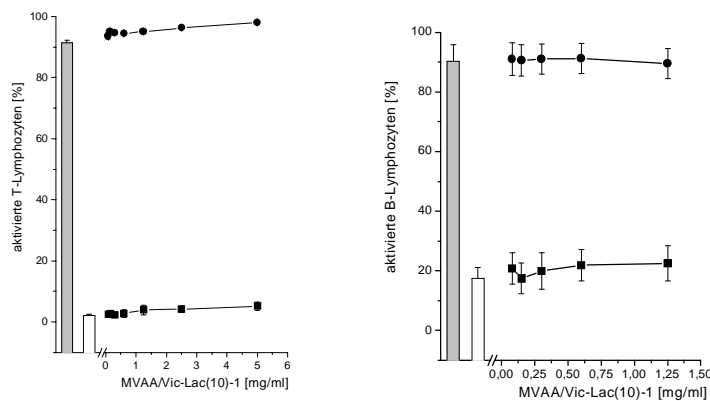
Eine Koinkubation der Zellen mit AAm/Vic-Lac(10)-0.1 und Phytohämagglutinin führt zu einer deutlichen Erhöhung des Anteils der aktivierten T-Zellen.

Abbildung 11-15: Konzentrationsabhängige Stimulation der T- und B-Lymphozytenaktivierung durch AAm/Vic-Lac(50)-0.1



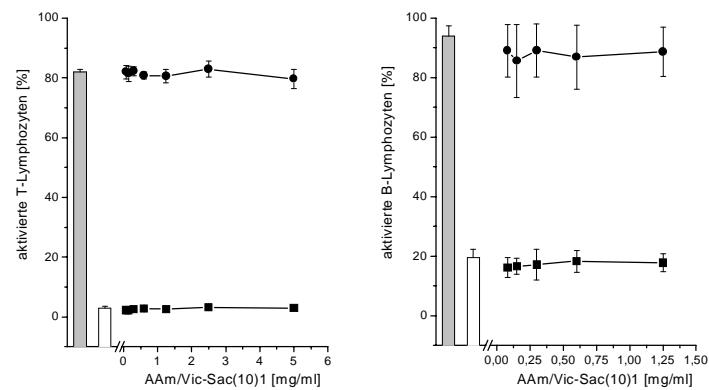
Höhere AAm/Vic-Lac(50)-0.1 Konzentrationen führen zu einer Erhöhung der T-Zellstimulation durch Phytohämagglutinin.

Abbildung 11-16: Konzentrationsabhängige Stimulation der T- und B-Lymphozytenaktivierung durch MVAA/Vic-Lac(10)-1



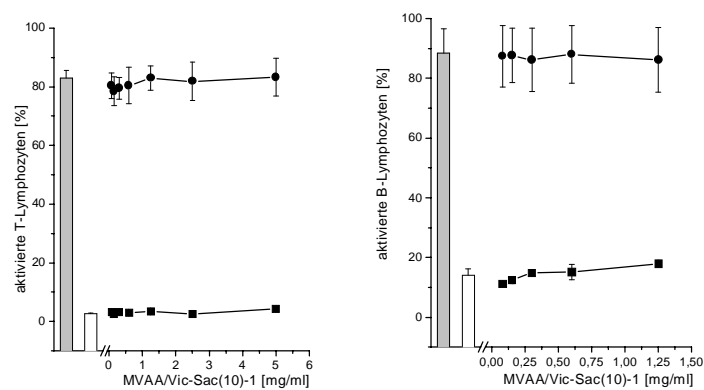
Der Anteil der durch Phytohämagglutinin (PHA) aktivierten T-Zellen war nach Koinkubation mit MVAA/Vic-Lac(10)-1 erhöht. Eine statistische Sicherung gelang bei hohen Konzentrationen ( $>2,5\text{mg/ml}$ ) auf dem 5%-Niveau.

Abbildung 11-17: Konzentrationsabhängige Stimulation der T- und B-Lymphozytenaktivierung durch AAm/Vic-Sac(10)-I



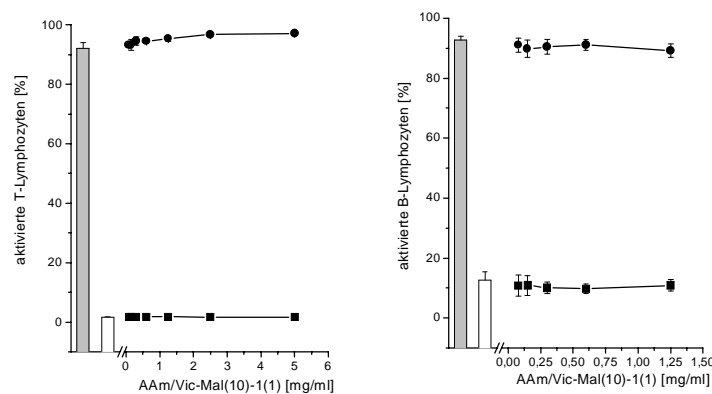
AAm/Vic-Sac(10)-1 beeinflusst die Lymphozytenaktivierung nicht.

Abbildung 11-18: Konzentrationsabhängige Stimulation der T- und B-Lymphozytenaktivierung durch MVAA/Vic-Sac(10)-I



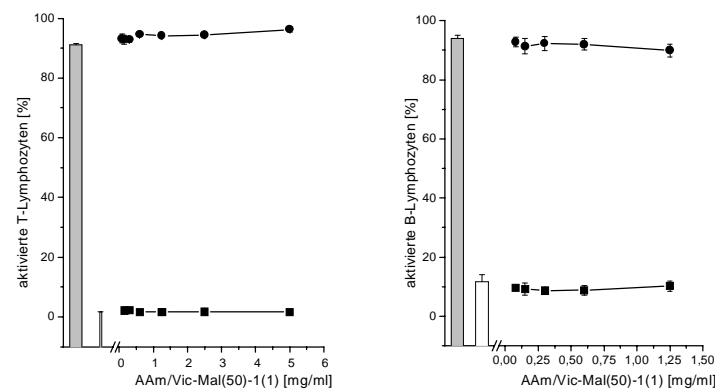
MVAA/Vic-Sac(10)-1 beeinflusst die Lymphozytenaktivierung nicht.

Abbildung 11-19: Konzentrationsabhängige Stimulation der T- und B-Lymphozytenaktivierung durch AAm/Vic-Mal(10)-I



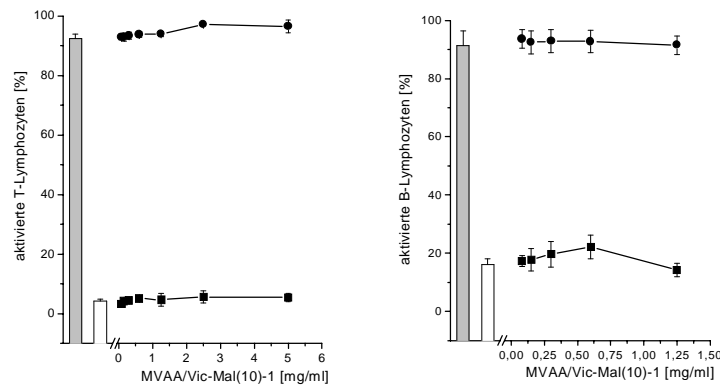
Der Anteil der durch Phytohämagglutinin (PHA) aktivierten T-Zellen war nach Koinkubation mit AAm/Vic-Mal(10)-1(1) ab Konzentrationen oberhalb von 300µg/ml erhöht. Diese kostimulatorische Wirkung war statistisch auf dem 5%-Niveau bei hohen Konzentrationen (2,5- 5mg/ml) sicherbar.

Abbildung 11-20: Konzentrationsabhängige Stimulation der T- und B-Lymphozytenaktivierung durch AAm/Vic-Mal(50)-I



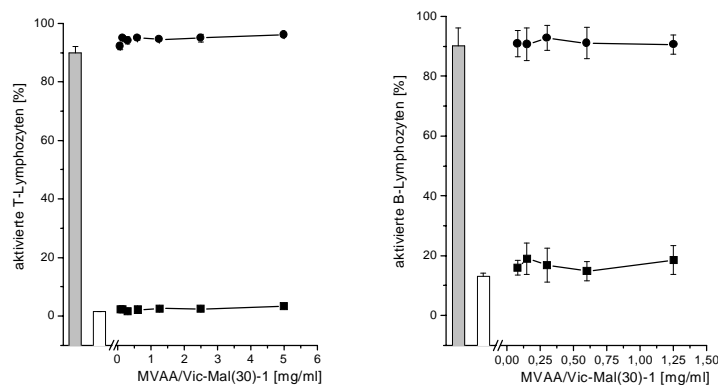
Der Anteil der durch Phytohämagglutinin (PHA) aktivierten T-Zellen war nach Koinkubation mit AAm/Vic-Mal(50)-1(1) ab Konzentrationen oberhalb von 600µg/ml leicht erhöht. Diese kostimulatorische Wirkung war statistisch auf dem 5%-Niveau sicherbar.

Abbildung 11-21: Konzentrationsabhängige Stimulation der T- und B-Lymphozytenaktivierung durch MVAA/Vic-Mal(10)-I



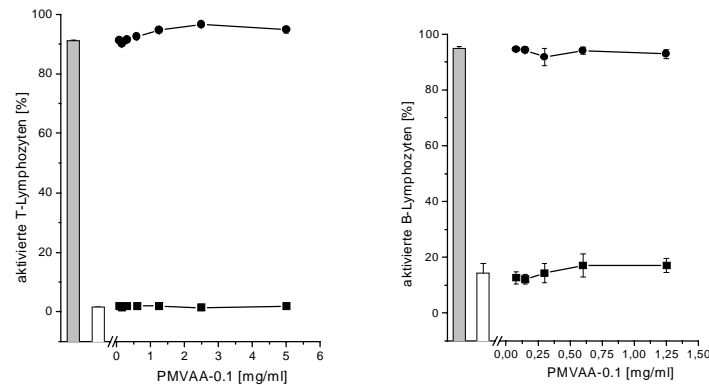
Der Anteil der durch Phytohämagglutinin (PHA) aktivierten T-Zellen war nach Koinkubation mit MVAA/Vic-Mal(10)-1 ab Konzentrationen oberhalb von 1,25mg/ml leicht erhöht.

Abbildung 11-22: Konzentrationsabhängige Stimulation der T- und B-Lymphozytenaktivierung durch MVAA/Vic-Mal(30)-I



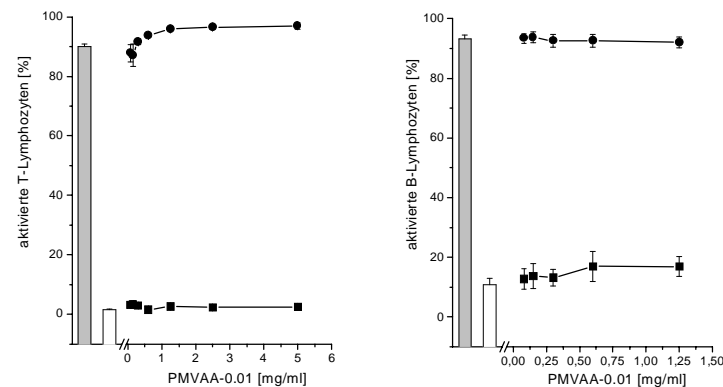
Durch Zugabe von MVAA/Vic-Mal(30)-1 in Konzentrationen bis 5mg/ml war nach 16 Stunden Inkubationszeit eine grenzwertige Erhöhung des basalen Aktivierungsstatus von T-Lymphozyten zu verzeichnen. In Gegenwart von MVAA/Vic-Mal(30)-1 war die Anzahl aktivierter B-Lymphozyten in einem relativ breiten Konzentrationsbereich leicht erhöht. Eine statistische Sicherung war auf dem 5%-Niveau möglich. Der Anteil der durch Phytohämagglutinin (PHA) aktivierten T-Zellen war nach Koinkubation mit MVAA/Vic-Mal(30)-1 ab Konzentrationen oberhalb von 150µg/ml geringfügig erhöht. Diese kostimulatorische Wirkung war statistisch auf dem 5%-Niveau sicherbar.

Abbildung 11-23: Konzentrationsabhängige Stimulation der T- und B-Lymphozytenaktivierung durch PMVAA-0.1



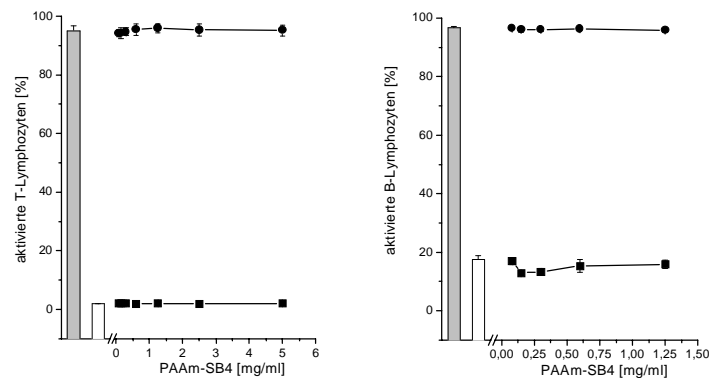
Der Anteil der durch Phytohämagglutinin (PHA) aktivierten T-Zellen war nach Koinkubation mit PMVAA-0.1 ab Konzentrationen oberhalb von 600µg/ml erhöht. Diese kostimulatorische Wirkung war statistisch auf dem 5%-Niveau bei einer Konzentration von 2,5mg/ml sicherbar.

Abbildung 11-24: Konzentrationsabhängige Stimulation der T- und B-Lymphozytenaktivierung durch PMVAA-0.01



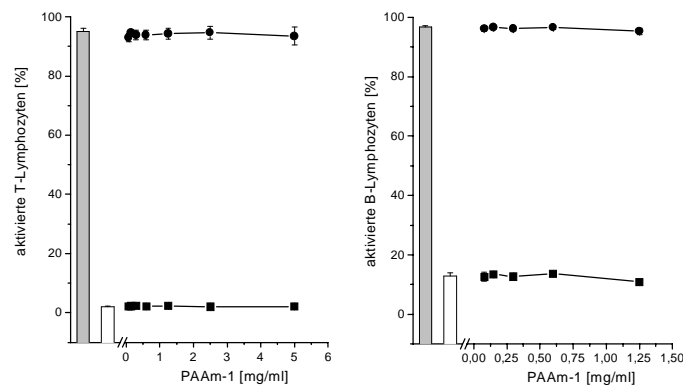
In Gegenwart von PMVAA-0.1 war die Anzahl aktivierter B-Lymphozyten ab einer Testkonzentration ab 600µg/ml erhöht. Eine statistische Sicherung war auf dem 5%-Niveau möglich. Der Anteil der durch Phytohämagglutinin (PHA) aktivierten T-Zellen war nach Koinkubation mit PMVAA-0.01 ab Konzentrationen oberhalb von 600µg/ml erhöht. Diese kostimulatorische Wirkung war statistisch auf dem 5%-Niveau bei Konzentrationen über 1,25mg/ml sicherbar.

Abbildung 11-25: Konzentrationsabhängige Stimulation der T- und B-Lymphozytenaktivierung durch PAAm-SB4



In Gegenwart niedriger Konzentrationen von PAAm-SB4 war die Anzahl aktivierter B-Lymphozyten verringert. Eine statistische Sicherung war bei einer Testkonzentration von 150 - 300 µg/ml auf dem 5%-Niveau möglich. Höhere Dosen zeigten keine signifikanten Wirkungen.

Abbildung 11-26: Konzentrationsabhängige Stimulation der T- und B-Lymphozytenaktivierung durch PAAm-1

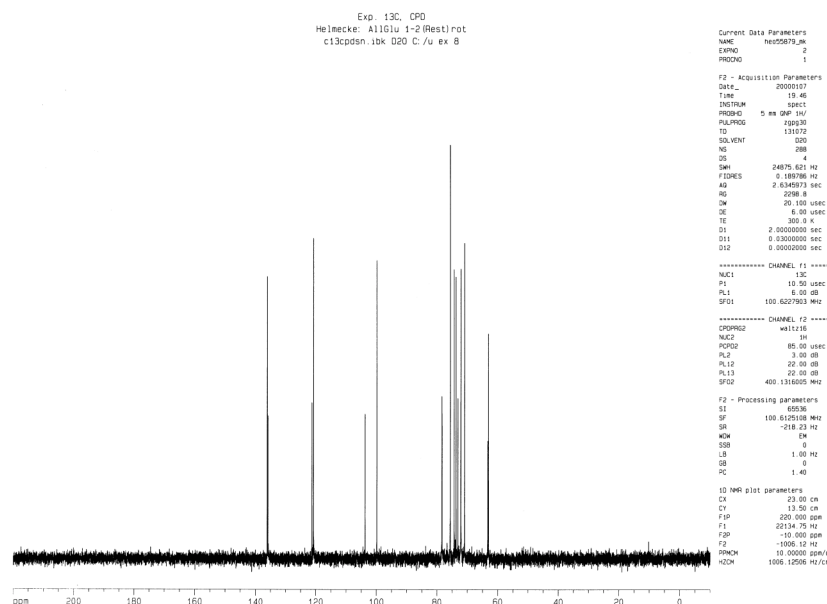


PAAm-1 beeinflusst die Lymphozytenaktivierung nicht.

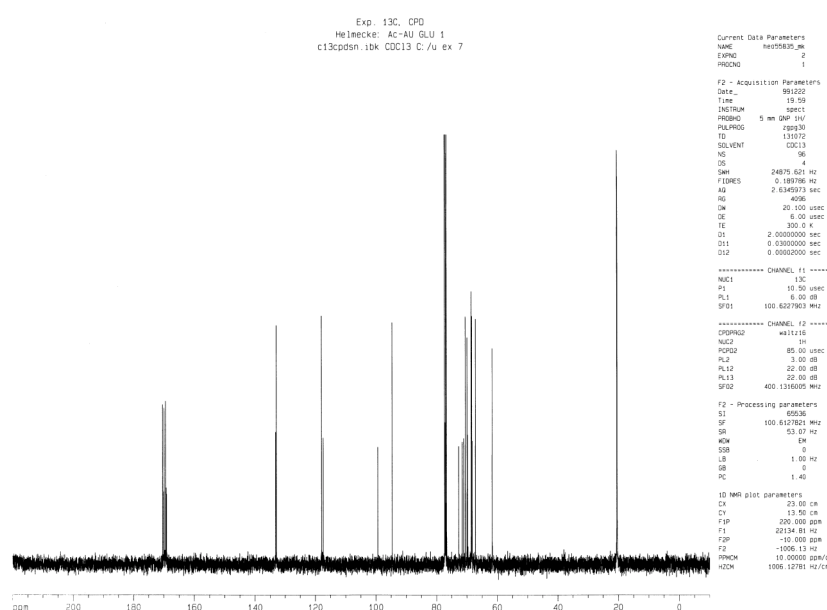


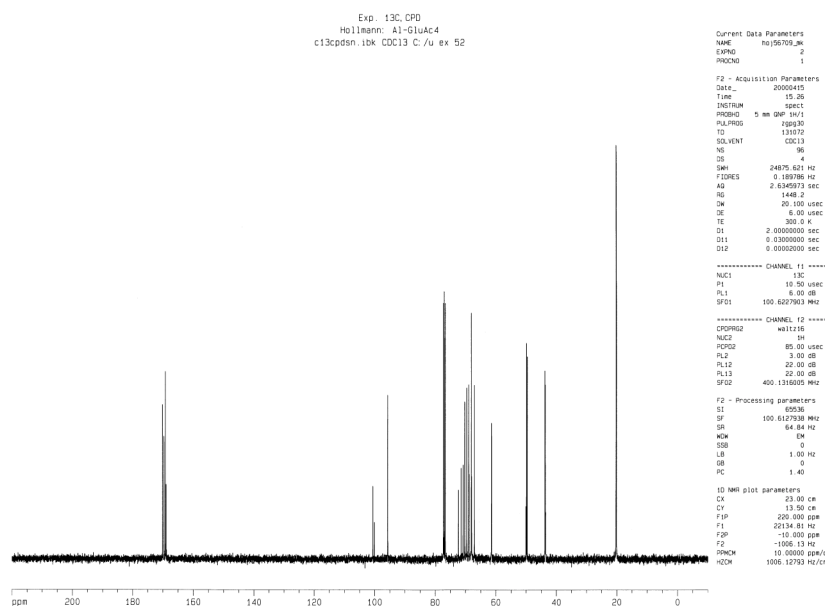
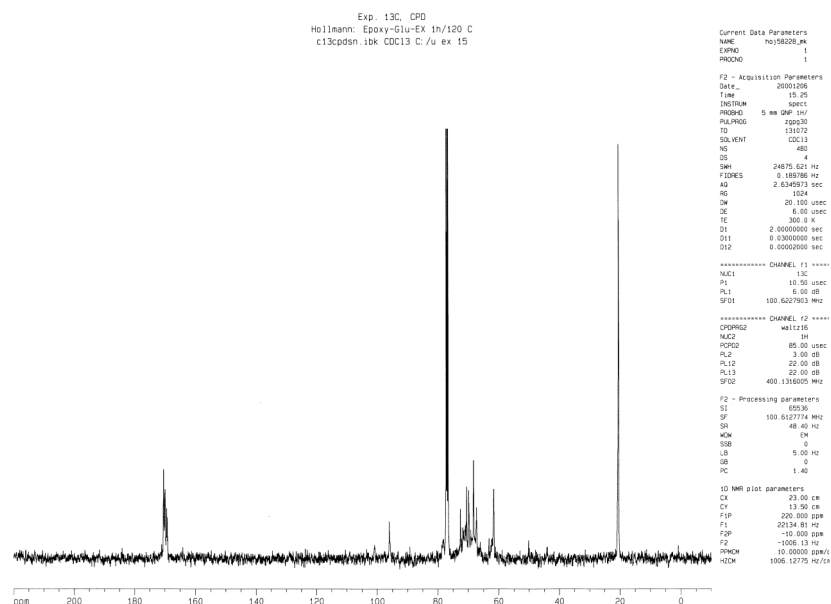
## 11.5 Charakterisierungsdaten der Polyethersaccharide

### $^{13}\text{C}$ -NMR von Allylglucosid:

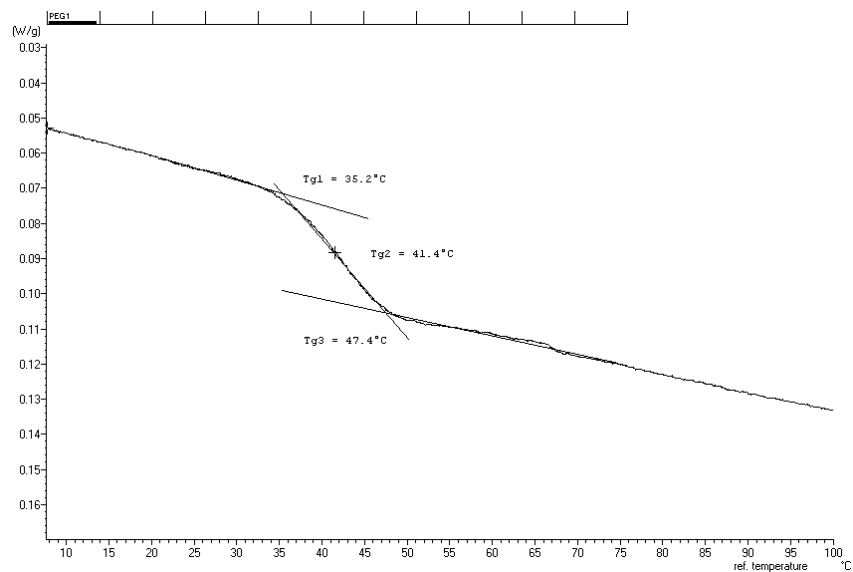


### $^{13}\text{C}$ -NMR von Allylglucopyranosid-tetraacetat:



$^{13}\text{C}$ -NMR von Epoxypropyl-gluco-pyranosid-tetraacetat: $^{13}\text{C}$ -NMR von Poly(Epoxypropyl-gluco-pyranosid-tetraacetat):

*Bestimmung der Glas temperatur von Poly(Epoxypropyl-glucopyranosid-tetraacetat):*



*Viskositätsmessungen von Poly(Epoxypropyl-glucopyranosid-tetraacetat):*

